

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1910-1911

N° 17

—X—

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DE LA FLORE FROMAGÈRE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue en JUIN 1911

PAR

LANGLAIS, MARC-LOUIS

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

LAURÉAT DES ÉCOLES DE MÉDECINE ET PHARMACIE

ANCIEN ÉLÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE, OFFICIER DU MÉRITE AGRICOLE

JURY

MM. RADAIS, Président.
COUTIÈRE, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

TOURS
IMPRIMERIE PAUL SALMON
10, RUE GAMBETTA, 10

1911

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1910-1911

N° 17

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DE LA FLORE FROMAGÈRE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue en JUIN 1911

PAR

LANGLAIS, MARC-LOUIS

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

LAURÉAT DES ÉCOLES DE MÉDECINE ET PHARMACIE

ANCIEN ÉLÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE, OFFICIER DU MÉRITE AGRICOLE

JURY

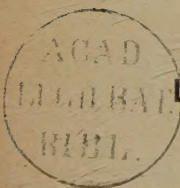
MM. RADAIS, Président.
COUTIÈRE, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

TOURS

IMPRIMERIE PAUL SALMON

10, RUE GAMBETTA, 10

1911



PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GAUTIER, Directeur, ,  I.
BOUCHARDAT, Assesseur. O ,  I.
E. MUSSON, Secrétaire,  I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, O. ,  I... Hydrologie et minéralogie.
GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. ,  I..... Botanique générale.
VILLIERS, ,  I..... Chimie analytique.
BOURQUELOT, ,  I..... Pharmacie galénique.
GAUTIER, ,  I..... Chimie minérale.
RADAIS, , I..... Cryptogamie.
BÉHAL, O. ,  I..... Chimie organique.
PERROT, ,  I..... Matière médicale.
COUTIÈRE, , I..... Zoologie.
BERTHELOT, , I..... Physique.
GRIMBERT, , I..... Chimie biologique.
MOUREU, ,  I..... Pharmacie chimique.
LEBEAU, , I..... Toxicologie.

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. ,  I.

Professeur honoraire : M. JUNGFLEISCH, O. ,  I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUÉRBET, , I.
DELEPINE, , I.
VALEUR, , A.
BOUGAULT, , A.
TASSILLY, , I.

MM. GUÉRIN, , I.
GUÉGUEN, , I.
LUTZ, , I.
HÉRISSEY, , I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, , I..... Chimie générale.
COUSIN, , I..... Chimie analytique
SOUÈGES, , A..... Micrographie.
MOURLOT, , I..... Physique.
BARTHELAT, , I..... Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, , A.

Bibliothécaire en chef : M. DORVEAUX, , I.

A

Monsieur le Professeur MAXIME RADAIS

*En témoignage de ma très profonde gratitude
et de mon affectueux dévouement.*

INTRODUCTION

Ce travail est divisé en deux parties.

Dans la première, j'ai étudié l'action du chlorure de sodium sur divers microorganismes, hôtes habituels des fromages.

Dans la seconde, j'ai fait l'étude morphologique et biologique de deux *Penicillium* non encore décrits, le *P. Cabareti* et le *P. Pearsoni* — isolés de la flore fromagère — et j'ai fait, dans les mêmes conditions, l'étude biologique du *P. Caseicolum*, isolé récemment par BAINIER.

Ces travaux ont été exécutés au Laboratoire de cryptogamie de l'Ecole Supérieure de Pharmacie, où pour la deuxième fois de ma vie, et à de longues années de distance, j'ai reçu de M. le Professeur Maxime RADAIS le plus cordial et le plus réconfortant accueil. J'ai donc contracté envers lui une double dette de reconnaissance et je suis heureux de lui exprimer ici ma bien vive gratitude, en lui renouvelant l'assurance de ma respectueuse amitié. La façon de donner, dit-on, vaut mieux que ce qu'on donne. Or, non seulement M. le Professeur RADAIS m'a témoigné une bienveillance jamais démentie, mais il ne m'a jamais fait sentir qu'il était bienveillant. Et de cela surtout, je le remercie du fond du cœur.

Je remercie également Monsieur le Professeur COUTIÈRE de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de faire partie de mon jury, et, pour cette même raison, Monsieur le Professeur-agrégé GUÉGUEN, qui, au cours de cette année d'études, a bien voulu s'intéresser à mes travaux et m'a donné fréquemment, avec autant de bonne grâce que de compétence, de précieux conseils.

J'adresse aussi de vifs remerciements à mon ami A. SARTORY, Docteur ès-sciences, Lauréat de l'Institut, à l'expérience et aux connaissances scientifiques duquel, j'ai journellement eu recours et qui m'a conseillé et dirigé avec le plus grand dévouement.

Je me fais un devoir et un plaisir de remercier encore :

Monsieur BAINIER, le savant mycologue, Conservateur de la Mycothèque de l'École de Pharmacie, qui m'a fait profiter de sa grande expérience et qui m'a permis d'augmenter mon modeste travail en étudiant une des nombreuses Mucédinées de sa collection — collection dont il peut être justement fier.

Monsieur A. MONVOISIN, chef de Travaux Pratiques à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Lauréat de l'Institut, auteur de travaux importants sur l'industrie laitière, qui me donna l'idée d'étudier l'action du chlorure de sodium sur la flore fromagère, et me fournit en outre de précieuses indications lors de mes recherches bibliographiques.

Monsieur le Dr GILLOT, l'aimable sous-Bibliothécaire de l'École de Pharmacie, à la complaisante érudition duquel je ne me suis jamais adressé en vain.

Monsieur le Dr GRATIOT, de la Ferté-sous-Jouarre, à qui je dois la récolte des deux *Penicillium* que j'ai décrits.

Que tous ceux qui directement ou indirectement m'ont
aidé reçoivent ici l'assurance de ma plus profonde gra-
titude.

M. L.

Juin 1911.

HISTORIQUE

Fabrication des Fromages

L'art de faire les fromages remonte à la plus haute antiquité, au temps même de la vie pastorale.

DAREMBERG et SAGLIO [14] rapportent que dans les habitations lacustres de la Suisse on a trouvé des vases qui ont dû servir à cette fabrication ; on les reconnaît aux trous dont ils sont percés et qui servaient à égoutter le lait.

Dans l'*Illiade* on parle du fromage de chèvre (αιγειος τυρος); on voit aussi par l'*Odyssée* qu'il entrait pour une part considérable dans l'alimentation de l'homme et que les procédés sommaires de fabrication étaient ceux qui ont été utilisés depuis.

La caverne du Cyclope est une véritable bergerie avec sa fromagerie (τυροκιμνιον) et tout l'aménagement qu'elle comporte. Il est vraisemblable que la μαζα αμολγαιη (pain de lait) d'Hésiode n'est autre chose que le fromage, et le fromage de chèvre, car le fromage de lait de vache ne devint commun que dans les deux derniers siècles avant J.-C.

Les procédés généraux de fabrication pratiqués dès les temps homériques ne changèrent guère depuis.

Les fromagers opéraient au temps où les Pléiades paraissent sur notre horizon, c'est-à-dire depuis l'équinoxe du printemps jusqu'à l'équinoxe d'automne ; ils choisissaient un lait épais, pur et frais tiré. Ils le faisaient cailler soit naturellement, soit en se servant des moyens artificiels, connus de très bonne heure : le suc laiteux tiré par incision de l'écorce du figuier sauvage, la fleur de chardon, le lait aigri ; on usait également du lait coagulé qui se trouve dans la caillette des veaux, des faons, des chevreaux, des agneaux et même des lièvres et surtout des lapins, à l'âge où ils sont encore nourris de lait.

Le fromage (τυρός) était mangé frais ou bien durci et moulé dans des tourtières de formes diverses et originales. L'*opias* (οπιας τυρός) était un fromage piquant fait avec du lait caillé au moyen du suc de figuier. [LEBAULT, 36].

On attribuait au berger Aristée la découverte des moyens artificiels de faire cailler le lait. Le caillé était égoutté dans des vases spéciaux et saupoudré de sel fin pour lui faire perdre son humidité. On le pressait, puis on le saupoudrait de nouveau avec du sel décrépité.

On appréciait fort chez les anciens le fromage qui avait été largement imprégné de saumure (σάλιμαζ) ou fait avec du lait d'animaux à la nourriture desquels on avait mêlé du sel.

Galien dit que le bon fromage n'est ni gélatineux, ni sec ; il ne pèche ni par l'excès ni par le manque de sel.

Dès le ^{ve} siècle avant J.-C. les fromages siciliens se vendaient partout. C'étaient de grands trophaliens, analogues à nos fromages de Brie. Il ne fallait pas les laisser trop vieillir. Ils se couvraient d'une sorte de moisissure formant une croûte plus ou moins dure d'où suintait une liqueur huileuse.

D'autres auteurs ont indiqué semblablement que l'industrie fromagère remontait aux temps les plus reculés, notamment le docteur J. ROCHARD [53] et BERTHELOT [6]

qui, ayant analysé des traités de chimie syriaque de la Bibliothèque de l'Université de Cambridge, écrit : « le recto 68 du manuscrit de Cambridge se termine ici et le verso est resté en blanc. Une main postérieure y a écrit en arabe une formule pour le fromage frais ».

Les anciens Grecs mangeaient peu et mangeaient mal : pour rappeler la frugalité des aïeux, on conserva longtemps, à Athènes la coutume de servir chaque année, aux fêtes des Dioscures, un repas composé de *fromage*, d'un gâteau, d'olives mûries sur l'arbre et de poireaux [ATHÉNÉE, 1].

Le fromage figurait aussi au nombre des quelques mets imposés aux Spartiates par leur fameux chef Lycurgue. Car parmi ses redoutables lois, il en était une qui régissait la table et ordonnait aux guerriers de prendre en commun le *syndcipnon* (συνδειπνον) (repas principal) et de ne manger qu'un plat par repas. Or, indépendamment du noir brouet fabriqué aux frais de la collectivité, chacun fournissait une part de farine, de légumes, de miel, de *fromage*.

Nous trouvons encore le fromage autorisé par le régime pythagoricien, et aussi par le régime platonicien. Platon fait dire à Socrate : « La nourriture des citoyens d'une république modèle sera de farine d'orge et de froment... » Et comme Glaucon, l'un des convives, l'interrompt pour lui demander si les citoyens n'auront rien à manger avec leur pain : « Tu as raison, lui répond-il, j'oubliais de dire qu'ils auront du sel, des olives, du *fromage*, etc ».

Rien d'étonnant à ce qu'on fit une place au fromage qui sous diverses formes avait tenu lieu de pain, avant l'introduction de ce dernier en Grèce. Avant de connaître le pain dont le secret de fabrication leur vint de Béotie, les anciens Grecs ne mangeaient que des bouillies claires connues sous le nom de *ptisanes* (πτισανῆ) et des pâtes plus épaisses appelées *mage*s (μαγίς). Ces aliments furent ensuite consommés concurremment avec le pain. Athénée nous

en a fourni de nombreuses formules. La mage dite *galaxia* (γαλαξίς) était faite d'orge et de lait caillé, l'*encride* (ἐγκρίς), de fromage, de miel et de farine de sésame.

Un peu plus tard, nous trouvons le fromage utilisé en pâtisserie. RICH [50] nous apprend que le *plakous* (πλακούς) était « un gâteau mince et plat, fait de farine d'avoine mêlée de fromage et de miel, mais très grand, de façon à pouvoir être coupé en morceaux ». Les Grecs fabriquaient aussi l'*enchyle* (ἐγκυτός), tartelette ou gaufre au fromage et le *kondyle* (κονδύλι) et le *tyroule* (τυρούς), pâtisseries au fromage et au miel.

Athénée nous a encore donné, d'après Chrysippe de Tyane, auteur de l'« Art de faire le pain », cette recette pour confectionner le *phtois* (φθός) : « Prenez du fromage, écrasez-le, passez-le dans un tamis de cuivre, jetez-y du miel, une hémine de belle farine et malaxez le tout ».

Enfin, de même que dans certaines brasseries contemporaines, on sait entretenir la soif des buveurs en faisant d'amples distributions de pommes de terre frites ou de gâteaux très salés, lorsqu'après le *deipnon*, (δειπνον) diner proprement dit des Grecs, arrivait l'heure du *symposion*, (συμπόσιον) l'heure de la beuverie, on mettait à la disposition des convives des fromages très salés dont ils mangeaient quelques fragments ou qu'ils se contentaient de lécher.

Chez les Romains, on connaissait également le fromage bien avant l'introduction du pain. Et, à l'époque où la nourriture essentielle du peuple était le *puls* (pulmentum), bouillie à la farine de froment, le fromage figurait sur toutes les tables.

Trois fromages des Gaules étaient particulièrement prisés à Rome : ceux de Nîmes, des Gabali (le Gévaudan), de la Lesura (Lozère).

J. IVOLAS [30] a écrit : « Il est fort probable que les fromages du mont Lesura dont parle Pline, et qu'on

apportait de Nîmes à Rome, étaient des fromages de Roquefort ».

Guillaume de Villeneuve, poète du ^{xiii}^e siècle, rapporte dans les *Cris de Paris* de son temps : *Bon fourmage de Champaigne, fourmage de Brye au burre fres* (au beurre frais), *fourmage hors* (fort) *de Milan*.

Trois siècles plus tard, Rabelais [49] nous parle, dans son *Pantagruel*, des soupes à l'oignon et au fromage et indique comme desserts : les *caillebottes* faites de lait caillé et sucré, les *jonchées*. lait fraîchement caillé et égoutté dans de petits paniers tressés d'osier ou de jonc.

Formages, caillebottes, jonchées, figurent dans la liste des aliments que les *gastrolâtres* « enfournoient en gueule » du *Dieu Ventripotent*, lors du cinquième service absorbé par ce personnage insatiable.

Dans le chapitre XXIII, à l'issue d'un dîner offert à la *Quinte Essence*, nous voyons encore défiler avec les « pâtisseries et tarteries, un monde de coscotons à la moresque, *formages*, *joncades*, etc. ».

Plus loin, en l'isle des Esclots (chapitre XXVII), quand nous assistons à la procession des Frères Fredons, nous apprenons que, rentrés au réfectoire, les frères se mettent à genoux sous les tables « sappuyans la poitrine et estomach chacun sus une lanterne. Eux estant en cest estat entroit un grand Esclot, ayant une fourche en main, et la les traictoît à la fourche : de sorte qu'ils commençoient leur repas par *formage* et l'achevoient par moustarde et laictue, comme tesmoigne Martial avoir este l'usage des anciens. »

Enfin, dans le chapitre XXXIV, en passant sous l'arc antique où les « trophées d'un beuveur sont bien mignonement insculptes » nous apercevons parmi flacons, bouteilles, fioles, pots, pintes et divers aliments : « *parodelles* (fromages ronds), langues de bœuf fumees, *formages* vieux, etc. ».

Durant des siècles, la fabrication des fromages n'a

guère varié. De très nombreux auteurs se sont efforcés de la perfectionner et il faudrait des volumes pour citer leurs travaux. Nous devons cependant rappeler parmi beaucoup d'autres les noms de ARTHAUD-BARTHEL [3], BABCOCK et RUSSEL [4], BEKHOUT et OTTO DE VRIËS [7], CHODAL et HOFMANN-BANG [11], ECKLES [18], FREEMAN [20], FREUDENREICH [22], GUÉRAULT [29], JOHAN-OLSEN [33], KLEIN et KIRSTEIN [34], LEZÉ [37], LÖRCHER [39], ORLA JENSEN [32], PAGÈS [47], POTTEVIN [48], SELIER [58], VAN SLYKE, HARDING et HART [63] dont nous eûmes l'occasion de parcourir les importantes études au cours de nos recherches bibliographiques.

Laissant de côté toutes les questions techniques ou théoriques se rapportant à cette industrie variée, difficile, et encore empirique, malgré les recherches des savants de toutes nationalités car, dit P. MAZÉ [13] « le lait restera une substance mal connue tant que la physiologie n'aura pas établi ses propriétés et pénétré le mécanisme de l'élaboration de ses constituants, tant que la chimie n'aura pas déterminé la composition exacte des matières azotées qu'il renferme » nous nous contenterons de passer en revue ce qui a trait à nos recherches personnelles, c'est-à-dire, à l'action du sel sur les microorganismes des fromages; à la flore extérieure de certains fromages.

Mais avant d'aborder ces deux points, il nous paraît indispensable de résumer les diverses phases de la fabrication d'un fromage et d'indiquer les rôles respectifs des champignons et des microbes qui ont à intervenir.

D'après Mazé dont les récents travaux font autorité, ce sont, en les classant par ordre d'importance : les *ferments lactiques*; les champignons de la flore superficielle, agents de combustion, *ferments comburants*, chargés de détruire le sucre de lait et l'acide lactique, enfin les bactéries

autres que les ferments lactiques, les *ferments* du « rouge » ou *alcalinisants*, qui se présentent comme les antagonistes des champignons :

« La chimie, dit M. Mazé, a commencé par définir les fromages ; elle s'est appuyée pour cela sur un nombre considérable d'analyses ; elle a constaté par exemple que dans les fromages affinés, les matières azotées se présentent sous deux états : l'état soluble et l'état insoluble. En faisant le rapport des deux catégories de substances, au moment où les fromages sont reconnus bons pour la consommation, elle a obtenu des coefficients de maturation auxquels elle a attribué la vertu de définir chaque variété de produits. Cette définition est arbitraire et ne correspond à aucune visée pratique. En la prenant comme base d'une technique existante, c'est-à-dire en considérant ainsi le problème résolu, la bactériologie a été conduite à rechercher des microbes peptonisants et à leur accorder une importance qu'ils ne méritent pas. »

Les praticiens ne cherchent pas à provoquer la solubilisation de la caséine ou sa dégradation, et si ce résultat tient une certaine place dans leurs préoccupations, ils ne nourrissent en réalité que le souci de l'éviter.

Pour eux, *le fromage n'est autre chose que l'extrait insoluble du lait, plus ou moins essoré, et débarrassé aussi complètement que possible du sucre de lait, ou des dérivés qu'il forme par voie de fermentation.*

Pour atteindre ce but, il n'est pas nécessaire de chercher à obtenir la solubilisation de la caséine ; elle se produit néanmoins, mais elle apparaît comme un résultat secondaire, presque un mal nécessaire. Tous les efforts du praticien tendent à limiter ce mal, à faire en sorte que la caséine solubilisée se dégrade le moins possible.

La première condition à remplir, c'est d'éviter l'intervention des ferments peptonisants proprement dits ; la seconde, c'est d'assurer le développement des ferments

utiles en quantité convenable, tout en ne mettant en œuvre que leurs propriétés comburantes à l'égard du sucre de lait ou de ses dérivés.

L'action des microbes comburants doit s'éteindre au moment même où le sucre de lait, ou pour mieux dire, l'acide lactique, son dérivé, disparaît. Il n'existe pas de moyens chimiques ou physiques d'obtenir ce résultat. C'est l'empirisme qui a découvert le seul qui puisse être utilisé, les associations microbiennes. Mais ce moyen ne réussit pas toujours ; il se trouve en défaut chaque fois que les ferments comburants prennent trop de développement et mesurent à leurs antagonistes, les ferments alcalinisants, une place qu'ils doivent leur abandonner tout entière. Comme c'est le sucre de lait qui les nourrit, il est nécessaire de leur mesurer cet aliment. On y parvient en réglant l'égouttage.

Salage des fromages

Nous venons de voir que l'emploi du sel dans la fabrication et pour la conservation des fromages remonte, lui aussi, aux temps les plus reculés. Le sel, en effet, rétracte le caillé et provoque l'exsudation d'une quantité de sérum en rapport avec la dose employée. Mais, utilisé à haute dose, le sel joue le rôle d'antiseptique et modifie à la fois la composition de la flore microbienne des fromages et le développement des espèces capables de supporter un salage exagéré.

Cette dose peut être, en effet, très élevée ainsi que nous l'indiquerons pour certaines espèces. GORINI [23] a constaté en étudiant les saumures, dont il préconise les désinfections fréquentes par des ébullitions prolongées, que le *Micrococcus Sornthalli* ADAMETZ [2] qui est une des causes du boursoufflement des fromages, ensemencé dans du petit lait ou du bouillon lactosé auxquels il ajou-

taît du chlorure de sodium dans les proportions de 0,50 à 25 %, vivait bien et manifestait encore son action gazéifiante dans le bouillon salé à 25 %.

Suivant ORLA JENSEN [31] qui est un des rares auteurs ayant étudié cette question, le sel, qui empêche la formation des trous dans l'Emmenthal, agirait à doses très minimes sur le développement des ferments propioniques. « Cette action, dit-il, commence déjà dans un bouillon peptonisé contenant une proportion de 1/2 % de sel de cuisine ; avec 2,5 %, on ne trouve presque plus de fermentation ; elle disparaît complètement avec 10 %. »

Ces doses nous paraissent très faibles et il est certain qu'en, règle générale les micro-organismes du fromage supportent des quantités de sel autrement élevées. D'ailleurs, les doses de sel marin, variant de 0 gr. 55 à 5 gr. % que DUCLAUX [15] a trouvées dans les nombreux fromages qu'il analysa — fromages arrivés à maturité — indiquent bien que la plupart des micro-organismes de la flore fromagère se sont développés malgré une dose relativement élevée de chlorure de sodium.

Il nous paraît intéressant de donner ici quelques uns de ces chiffres :

<i>Grana</i> (Lodi),	100 gr. contiennent	1,65	de sel marin.
<i>Grana</i> (Reggio),	—	1,76	—
<i>Gruyère</i> ,	—	0,57	—
<i>Cantal</i> (Salers),	—	2,2	—
<i>Cantal</i> (Cuelhes),	—	3,1	—
<i>Hollande</i> (I),	—	2,30	—
<i>Hollande</i> (II),	—	1,58	—
<i>Hollande</i> (III),	—	3,61	—
<i>Hollande</i> (IV),	—	2,89	—
<i>Hollande</i> (V),	—	3,84	—
<i>Roquefort</i> (Sté des Caves),	—	4,21	—
<i>Gorgonzola</i> ,	—	2,64	—
<i>Brie</i> ,	—	3,26	—
<i>Brie</i> (ferme de Marcy),	—	3,70	—

D'autre part, LINDET [38], dans son chapitre ayant trait au salage des fromages indique, que les *Brie* reçoivent en moyenne 8 grammes de sel par litre. Mêmes doses pour les *Géromé*, *Pont-l'Évêque*, *Camembert*, *Chevrotons*. Les fromages de Hollande sont plongés dans une saumure à 15%. Les *Gorgonzola*, *Gex*, *Seplmoncel*, sont roulés dans le sel, quand ils ont pris, par l'égouttage, une consistance suffisante. Le *fromage du Cantal*, salé avant sa mise en moule, est, pendant le cavage, salé de nouveau au moyen d'une saumure. Il en est de même du *Port-Salut*. Enfin, les *Roquefort*, *Gruyère*, *Emmenthal* sont salés pendant leur séjour en cave et sur les deux faces, à 24 heures d'intervalle, et, quand le sel est assez humide pour se dissoudre, on frotte le fromage avec un linge de laine pour faire entrer à l'intérieur du fromage la saumure ainsi obtenue.

MESNIL [44] a indiqué comment se fait le salage dans la *Brie* et nous reproduisons une partie de sa communication, ayant eu précisément à nous occuper de microorganismes recueillis dans une fromagerie de cette région, à la ferme de Marcy, près de la Ferté-sous-Jouarre, ferme où Duclaux alla jadis étudier la fabrication des fromages de *Brie*(1).

« En *Brie*, les fromages sont généralement salés 48 heures après leur fabrication, souvent plus tard si l'égouttage n'est pas suffisant. On attend pour cela que le fromage soit « ressuyé ». A ce moment seulement le sel produira l'effet qu'on lui demande ; n'étant pas entraîné

(1) La ferme de Marcy appartenait à M^{me} Roussel, belle-mère du Professeur Bar. A l'une de nos visites à Marcy, le Professeur Bar nous conta que M^{me} Roussel fabriquait alors les meilleurs fromages de toute la région et qu'on les lui payait 1 ou 2 francs au dessus du cours. Duclaux voulut savoir à quoi cela pouvait tenir. M^{me} Roussel lui dit que ses caves étaient peuplées d'excellents germes et que, pour les retenir, elle imprégnait de temps en temps ses « cagets », de levure de bière. Duclaux haussa les épaules et déclara que cela ne signifiait rien du tout. Nous rapportons cette anecdote typique parce qu'elle confirme ce que nous dirons plus loin au sujet d'une opinion de ce savant qui étudia l'industrie fromagère en chimiste et non en bactériologiste.

par le lait d'égouttage, il restera à la surface, sera dissous et pénétrera dans l'intérieur de la pâte, pour « préparer le terrain » aux moisissures en enlevant l'excès d'humidité qui leur nuirait. On sale la face supérieure et le tour; six heures après on retourne la forme et on sale la deuxième face. L'ouvrier sale sans mesure. Pour un Brie de 13 litres la dose varie de 90 à 130 grammes. Si le fromage est trop salé, la pâte devient sèche, friable; le goût laisse à désirer. S'il n'est pas assez salé, la pâte reste molle, l'égouttage se fait mal, le fromage se recouvre d'un duvet qui n'est pas le *Penicillium* mais bien l'*Oidium lactis* lequel ramollit sa surface, plisse sa peau et fait couler la pâte. Le fromage est invendable ».

Mesnil signale que sur 6 fromages ensemencés d'*Oidium* et salés à raison de 8 grammes par litre (soit 101 grammes de sel pour un Brie de 13 litres) un seul a été recouvert d'*oidium*; les autres n'ont eu que de légers plis. En portant le salage à 9 grammes (soit 27 grammes pour un Coulommiers de 3 litres) pas un seul n'a plissé.

L'*Oidium lactis* se développe donc surtout : 1^o lorsque le salage est insuffisant; 2^o lorsque l'égouttage est incomplet.

En moyenne, il faut de 6 à 9 grammes de sel par litre de lait. Ces doses correspondent à celles indiquées plus haut par LINDET qui d'autre part préconise plutôt l'emploi de la saumure (eau salée à saturation) dans laquelle les fromages sont immergés durant 1/2 heure à 2 heures, après quoi ils sont égouttés et séchés comme les autres.

Peu d'auteurs, avons-nous dit, se sont occupés de l'influence du chlorure de sodium sur les microorganismes des fromages. OTTO FETTICK [46] a étudié son action sur les microorganismes du beurre et nous rapportons quelques-uns de ses essais faits avec des microorganismes qu'il nous a été donné d'étudier. OTTO FETTICK délayait 125 grammes de beurre dans une certaine quantité de

bouillon gélatiné, salé à des doses variables ; il coulait en boîtes de Petri et faisait des numérations de colonies.

	NOMBRE DE COLONIES	PAS DE SEL	SEL 0,50	SEL 1gr.	SEL 2gr.	SEL 3gr.	SEL 4gr.	SEL 5gr.	SEL 6gr.
		Innombrables	630	295	15	3	0	0	0
<i>Oidium lactis</i>		id.	1400	700	120	17	0	0	0
<i>Mucor Mucedo</i>		130	40	32	18	7	0	0	0
<i>Penicillium glaucum</i> ...		329	332	341	310	127	0	0	0*
<i>Bacillus acidi lactici</i> ...		Innombrables					2100	1050	1200
<i>Bacillus lactis aerogenes</i>									

Nous avons procédé tout autrement ainsi que nous l'exposons dans notre chapitre : *Technique pour l'étude morphologique*, et nous nous sommes efforcé de mettre en évidence le retard apporté par le chlorure de sodium dans le développement des Bactéries, en utilisant autant que possible des milieux permettant les cultures en stries. C'est ce qui nous a permis de présenter quelques figures schématiques indiquant les stades de croissance à diverses époques sur des milieux diversement salés. Elles nous dispenseront de tout commentaire [p. 91].

Dans sa très complète étude de *Technique fromagère*, MAZÉ [43] reconnaît que l'industrie fromagère s'est développée surtout grâce à l'usage qu'on fait du sel marin comme antiseptique, mais il estime que ce sont désormais les ferments lactiques qui doivent se substituer au sel marin dans son rôle d'agent conservateur, car ces ferments présentent l'avantage énorme d'assurer la régularité de la fabrication depuis le moment où le lait est mis en présure, jusqu'au jour où il est livré à la consommation, et de développer dans la masse de la pâte les qualités gustatives qu'on lui réclame.

« Le sel est en effet, » dit-il, « un antiseptique qui agit aussi bien sur les bonnes fermentations que sur les mauvaises. Dans les fromages fortement salés, les ferments lactiques sont tués au bout de quelques jours L'*Oidium* disparaît

radicalement ; les moisissures résistent, mais évoluent très lentement. D'un autre côté, l'action des diastases est à peu près empêchée, l'affinage est ralenti ; les fromages salés ne s'affinent qu'avec le concours de grandes quantités d'ammoniaque ; les pratiques qui consistent à les placer dans le foin, les feuilles mortes, les cendres, le marc de raisin n'ont pas d'autre but que de leur procurer une atmosphère fortement ammoniacale hors de laquelle ils resteraient très longtemps acides.

« Quand on a pu renoncer sans danger au sel marin, » ajoute Mazé, « on a délaissé tous ces procédés et on s'est attaché à combattre les mauvaises fermentations en assurant le séchage méthodique du caillé et en réglant les conditions de température. »

Tout ceci nous semble absolument parfait en théorie et réalisable pratiquement sans doute dans les grandes fromageries où l'on peut, en des séries de locaux indépendants, voir s'accomplir les fermentations successives dans des conditions de température et d'humidité bien appropriées.

Mais ces conditions sont irréalisables dans les petites exploitations rurales, dans les fermes isolées où longtemps encore la fermière, ignorante mais avisée, enseignera à sa fillette l'art de faire du fromage — et d'excellent fromage ! — suivant la méthode que sa mère apprit elle-même de sa grand'maman...

Et longtemps encore, dans ces milieux, le sel marin demeurera en faveur, et l'on estimera avec LINDET [38] que « c'est le salage des fromages qui sélectionne pour ainsi dire les moisissures » et que « c'est souvent à un défaut de salage qu'il faut attribuer l'envahissement de la croûte par une moisissure étrangère à celle que l'on veut développer ».

Le sel, le sel qu'Homère vénérât comme « un présent de l'Olympe », le sel que Plutarque appelait pom-

peusement « condiment des condiments », le sel que les Romains offraient à leurs dieux et qui servait jadis à payer les travaux des ouvriers — les mots salaire et salarier n'ont pas d'autre origine — le sel sera, durant de longues années encore, employé chez nos fermiers.

N'ayant pas la compétence nécessaire pour aborder une question pouvant intéresser la grande Industrie fromagère nous nous contenterons d'apporter aux petits fromagers, encore tributaires du sel, notre modeste travail, espérant qu'il leur fournira peut-être quelques indications utiles.

Flore superficielle des fromages

Les principaux champignons composant la flore superficielle des fromages, sont, d'après Mazé, des *ferments comburants* appartenant aux genres : *Penicillium*, *Oidium* et *Mycoderma*. Bien que ce dernier genre, créé jadis par Persoon, et employé pour désigner des organismes appartenant à des groupes très divers, ait tout à fait disparu de la Nomenclature, nous devons le maintenir provisoirement pour nous conformer à la terminologie adoptée par MAZÉ. Il reste entendu que les organismes ainsi désignés appartiennent au groupe des Levûres ou des champignons bourgeonnants.

Tous ces champignons détruisent le sucre de lait et l'acide lactique, qui sont leurs aliments carbonés par excellence ; ils attaquent aussi la caséine et les matières grasses, mais dans une fabrication bien réglée, ils ne doivent consommer que la caséine nécessaire à leur alimentation azotée et laisser intactes les matières grasses.

Apparaissant cinq à six jours après la mise en forme des fromages, ces *ferments comburants* sont chassés bientôt par les ferments du « rouge » ou *ferments alcalinisants* qui viennent protéger la pâte du fromage contre

leur avidité ou du moins leur mesurer la nourriture, et annihiler ou modérer leur action oxydante.

A côté de ces trois genres qui existent toujours, on trouve divers autres champignons parmi lesquels nous citerons les *Mucor* et les *Sterigmatocystis*, ayant étudié sur deux d'entre eux l'action du chlorure de sodium.

Laissant de côté ces divers champignons, nous ne nous occuperons que des *Penicillium* dont les espèces sont fort nombreuses et dont l'existence doit être apparemment aussi vieille que celle de certains fromages. En effet, nous avons vu plus haut qu'au ^{ve} siècle avant J.-C., les fromages siciliens, semblables à nos fromages de Brie, se couvraient d'une couche de moisissure.

En des temps plus proches, bien que fort lointains, le *Penicillium glaucum* (1) attira l'attention du grand empereur Charlemagne. L'anecdote suivante, contée par le Moine de Saint-Gall, nous autorise à l'assurer [LEBAULT, 36].

« L'empereur, dans un de ses voyages, descendit à
« l'improviste chez un évêque. C'était un vendredi. Le
« prélat n'avait point de poisson ; et il n'osait d'ailleurs,
« à cause de l'abstinence du jour, faire servir de la viande
« au prince. Il lui présenta donc ce qu'il avait chez lui,
« de la graisse et du fromage. Charles mangea du fro-
« mage, mais prenant les taches du persillé pour de la
« pourriture, il avait soin auparavant de les enlever avec
« la pointe de son couteau. L'évêque qui était debout
« près de la table, ainsi que la suite du prince, prit la
« liberté de lui représenter que ce qu'il jetait était le
« meilleur du fromage. Charles goûta donc du persillé ;
« il trouva que son hôte avait raison et le chargea même
« de lui envoyer tous les ans, à Aix-la-Chapelle, deux
« caisses de fromages pareils. »

(1) Syn. *P. crustaceum* FRIES.

Les *Penicillium* qu'on rencontre le plus souvent sur les fromages sont : le *P. glaucum* LINK, le *P. album* EPSTEIN, le *P. candidum* LINK, le *P. caseicolum* BAINIER, le *P. Camemberti* THOM, etc. A côté de ces espèces classiques qui jouent un rôle important dans la maturation et qui furent étudiées par de nombreux auteurs, il se trouve une très grande quantité de *Penicillium*, indifférents ou nuisibles, qu'on peut occasionnellement rencontrer sur les fromages ou sur les murs des laiteries. THOM [62] en a décrit une quarantaine d'espèces et il en existe d'autres assurément, puisque, pour notre part, nous en avons isolé deux, non encore décrites.

MAZÉ [43] a très nettement établi les conditions d'existence des bons et des mauvais *Penicillium* dans les fromageries. Dans sa *Technique fromagère* que nous avons de si fréquentes occasions de citer, il a montré comment le *P. glaucum* était toujours le premier occupant des locaux neufs ; comment le *P. album* — seule espèce du groupe des *Penicillium* qui serait capable de se développer sur les murs et les étagères des fromageries en l'absence de tout élément organique apporté par les éclaboussures de lait ou de petit lait — devait attendre parfois des années avant de se substituer au *P. glaucum* ; comment le *P. candidum* qui ne peut s'acclimater naturellement, doit être ensemencé directement dans le lait ou le caillé, à l'aide de fromage déjà moisi et recouvert de ce *Penicillium* que certains fromagers préfèrent à tout autre.

Il a montré combien il était nécessaire de peupler les locaux où se fait le fromage des espèces favorables à sa fabrication. Il est en cela d'accord avec la croyance populaire qui se traduit en certaines régions, par cet aphorisme : « Enlever trop souvent les poussières de l'étable et de la laiterie, c'est enlever la crème de sur le lait (1). »

(1) Indiqué par M. Paul Sébillot, directeur de la *Revue des Traditions Populaires*.

DUGLAUX [16] qui, nous l'avons dit, étudia ces questions surtout en chimiste, a écrit : « Peut-être y a-t-il quelques différences entre les espèces qui habitent les très bonnes fermes et celles qui habitent les fermes ordinaires, mais je ne le crois pas. »

La théorie et la pratique affirment le contraire. Les fromagers ont le soin d'entretenir de bonnes espèces sur leurs cagets et d'ajouter à leur lait ou à leur caillé de menus fragments de leurs meilleurs fromages, afin d'assurer le peuplement de la masse par de bons ferments.

Tous ces *Penicillium* se rattachent au *Penicillium glaucum* décrit par LINK en 1809. Les *Penicillium* de structure et de fructification différentes constituent-ils des types spéciaux, ou ne sont-ils que des dérivés d'une même espèce ? C'est une question que nous ne saurions résoudre et que des savants autorisés ont discutée sans pouvoir se mettre d'accord.

COSTANTIN et REY [12] ont écrit : « Les *Penicillium* sont tantôt bleu-blanc, vert-bleuâtre, bleu-grisâtre, enfin il en est de très foncés (maladie du bleu noir). Ce sont autant de races diverses dérivées d'une même race originelle. » Ils le supposaient du moins, en s'appuyant sur ces constatations :

« Dans le *Penicillium bleu foncé*, la fructification est très riche et le mycélium très réduit ; dans le *P. bleu pâle*, la fructification est moins serrée, le mycélium plus développé ; enfin, dans le *P. blanc*, le tube de culture est rempli par un feutrage d'un beau blanc qui reste assez longtemps stérile et fructifie peu ; les pinceaux sporifères sont moins fournis, mais les spores se forment et germent d'une façon régulière. Ceci peut s'interpréter en admettant qu'il s'est effectué un passage du *P. bleu foncé* au *P. blanc* par atrophie progressive de l'appareil reproducteur. Le *P. idéal* serait une race peu fructifiée, mais sans mycélium trop abondant. »

D'après ces auteurs, la forme primitive est la forme bleu foncé.

D'un autre côté, STOLL [60] a regardé le *P. candidum* comme un *P. glaucum* sans couleur.

THOM, MAZÉ, ROGER, MORINI [45] ont longuement discuté pour savoir s'il convenait de rattacher le *P. Camemberti* var. *Rogeri* au *P. candidum* LINK ; si le fait d'avoir des spores sans couleur constituait un simple fait d'albinisme ; si, au contraire, il y avait là une variété du *P. Camemberti*.

THOM a conclu qu'il y avait bien une variété distincte, le *Penicillium* étant resté constant dans sa culture pendant plusieurs années.

Cette constance dans les cultures diverses nous a montré que nous avons bien affaire à deux espèces nouvelles ; les caractères respectivement propres au *P. Cabareli* et au *P. Pearsoni* que nous décrirons plus loin, n'ayant jamais sensiblement varié depuis de longs mois.

TECHNIQUE POUR L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE

Milieux de Culture

La composition des milieux de culture ayant une influence notable sur l'organisation générale et le développement des moisissures, il est nécessaire de faire connaître la composition de ceux que nous avons utilisés.

LIQUIDE DE RAULIN. — Raulin [50], après des expériences remarquables, a établi, en 1870, la composition d'un liquide particulièrement adopté au développement de l'*Aspergillus niger* mais susceptible d'alimenter plus ou moins la croissance d'autres Mucédinées. Il est ainsi constitué :

Sucre candi	70 gr.	Sulfate d'ammon. . . .	0.25
Acide tartrique . . .	4	— de zinc	0.07
Azotate ammoniaq. .	4	— de fer	0.07
Phosphate —	0.6	Silicate de potasse . .	0.07
Carbonate de pot. . .	0.6	Eau distillée . . .	1.500 cc.
— mag.	0.4		

RAULIN NEUTRE. — L'acidité du liquide de Raulin est généralement favorable au développement des champignons ; comme elle peut être au contraire défavorable

dans certains cas, on fait un liquide de Raulin neutre en remplaçant dans la formule ci-dessus, l'acide tartrique par une quantité équivalente de tartrate neutre de potasse. Ce Raulin neutre donne des milieux solides par addition de 10 à 12 % de gélatine et 2 % de gélose.

POMME DE TERRE ET CAROTTE. — On les lave et on les pèle soigneusement; on les coupe par tranches, on les lave sous un courant d'eau, tant pour enlever les traces de sels de fer laissés par le couteau et qui pourraient modifier la coloration de certaines cultures, que pour éviter les phénomènes de coloration dus aux enzymes oxydants; on les introduit dans les tubes de Roux, on bouche avec du coton et on les porte à l'autoclave où on les laisse pendant une vingtaine de minutes à 110°. On obtient ainsi en même temps la cuisson et la stérilisation de ces milieux de culture.

POMME DE TERRE ACIDE. — On fait macérer pendant 24 heures les fragments de pomme de terre dans une solution d'acide lactique à 1 % et on les introduit dans les tubes de Roux avec une quantité de la même solution, suffisante pour baigner la partie inférieure du fragment après l'opération de la stérilisation.

POMME DE TERRE GLYCÉRINÉE. — On fait macérer pendant 24 heures les fragments de pomme de terre dans une solution de glycérine pure à 50 % et on opère comme ci-dessus.

BOUILLON. — La préparation se fait, soit avec de la viande hachée, comme l'indique GRIMBERT [24], soit plus rapidement en ajoutant à 1.500 grammes d'eau, 30 grammes de peptone (1), 7 gr. 5 de glucose et 75 grammes de

(1) Nous avons utilisé la Peptone Byla pour cultures.

glycérine. On neutralise avec de la soude au 1/10 jusqu'à légère alcalinité et, comme avec le Liquide de Raulin, on solidifie par la gélatine ou la gélose.

Tous ces liquides ou solides sont placés dans des tubes ou des vases de culture, bouchés au coton et recouverts d'une capsule d'étain. Une stérilisation à 110° pendant un quart d'heure est toujours suffisante et on évite ainsi d'obtenir des pommes de terre pâteuses et des liquides troubles.

MILIEUX SPÉCIAUX.— Afin d'étudier l'action du chlorure de sodium sur certains microorganismes des fromages, nous avons, après divers essais infructueux, été amené à préparer un milieu de culture à l'aide d'un liquide de Raulin neutre dans lequel nous avons remplacé le saccharose par 3,5 % de caséine soluble et 5 % de sucre de lait (doses correspondant à celles qu'on trouve dans un lait normal). Ce liquide était additionné de sel marin à des doses variant de 0,50 % à 30 % et de 12 à 15 % de gélatine, les cultures en stries nous permettant de mieux observer le retard apporté au développement des moisissures par le chlorure de sodium.

Nous avons pour ces mêmes essais employé : 1° du fromage blanc frais salé aux mêmes doses et stérilisé à 110° pendant un quart d'heure ; 2° du lait stérilisé, après avoir reçu de semblables additions de sel marin ; 3° du bouillon stérilisé également salé.

Précédemment, nous avons employé sous le nom de *milieu caséine-lactose* une simple solution dans l'eau distillée, de 3,5 % de caséine soluble et de 5 % de sucre de lait, additionné de 12 % de gélatine.

Examen microscopique.

Il a été fait avec ou sans coloration. Dans ce dernier cas, on peut monter simplement à l'eau la préparation,

ou recourir à la méthode de CROOKSHANK. On dépose une goutte de glycérine sur une lame et une goutte d'alcool sur une lamelle, on immerge les filaments mycéliens dans l'alcool, on renverse la lamelle sur la glycérine et on porte le tout sur une flamme jusqu'à l'apparition de bulles gazeuses.

La coloration peut être obtenue avec les solutions très étendues de Fuchsine de Ziehl, de Thionine phéniquée de Nicolle, de Bleu de méthylène, de Violet de gentiane, de Safranine ou d'Éosine. Le colorant de choix est le Bleu lactique, dont la conservation est indéfinie et l'emploi très facile; il a l'avantage de fournir des préparations transparentes. Pour le préparer, on dissout à froid 0 gr. 15 de Bleu coton (bleu C⁴ B. Poirrier), dans 100 grammes d'acide lactique pur, et on filtre. Une gouttelette placée sur une lame et chauffée, jusqu'à production de légères vapeurs, colore le contenu cellulaire en bleu foncé et parfois la membrane en teinte plus claire. Le colorant triple de GUÉGUEN [27], employé comme le bleu lactique, permet de voir les matières grasses colorées en orangé vif, l'amidon en violet, et le glycogène en brun acajou, le tout tranchant vivement sur le fond bleu du protoplasme.

Cultures Cellulaires.

Pour connaître le mode de développement et de fructification du champignon, nous l'avons cultivé en cellule suivant la méthode de VAN TIEGHEM. Un anneau de verre est fixé, à l'aide d'un peu de vaseline, sur une lame flambée. On met quelques gouttes d'eau dans ce petit récipient, afin de retarder la dessiccation de la culture. Puis, à l'aide d'un fil de platine recourbé on dépose à la face inférieure d'une lamelle, préalablement flambée, une large goutte de Liquide de Raulin stérile. On ensemeence et on dépose cette lamelle, à la manière d'un couvercle, sur l'anneau dont la paroi supérieure a été recouverte

d'une mince couche de vaseline, qui assurera l'adhérence de la lamelle. On peut ainsi observer les diverses phases du développement du champignon avec des objectifs forts, à sec. Pour des grossissements plus élevés, on porte la lamelle ensemencée tournée vers le haut, dans l'alcool absolu ce qui empêche les conidies de trop se détacher de leurs fragiles supports ; on monte ensuite à la glycérine ou l'on colore comme pour les cultures en masse.

MENSURATION. — Nous avons dessiné quelques formes de champignons, développées dans nos cultures en gouttes, à l'aide de la chambre claire de Malassez et au grossissement indiqué. Basides, stérigmates et conidies sont mesurés, le μ étant pris comme unité.

TECHNIQUE POUR L'ÉTUDE BIOLOGIQUE

Connaissant la morphologie générale d'un champignon, nous considérerons l'action produite sur son développement par les agents physiques ou chimiques, et réciproquement les changements apportés par la culture de la plante dans la composition des milieux où elle végète.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE.

Toute moisissure vit dans des limites de température variables pour une même espèce, mais dans l'échelle thermométrique, il est un point où sa croissance est maxima, ce point marquant l'optimum de température de l'espèce considérée. On distingue, par définition, l'optimum de germination et l'optimum de croissance.

L'optimum de germination est la température variable où l'allongement des filaments mycéliens issus de la spore est le plus considérable au bout d'un temps donné. Pour le déterminer, nous ensemençons sept tubes de Raulin. Nous en mettons un dans une cave où la température était d'environ 10-11° et nous mettons les six autres dans des étuves réglées à 17°, 22°, 27°, 32°, 37° et 42°. Après 24 heures, un prélèvement opéré dans chaque tube permet

de mesurer au microscope la longueur des hyphes émises par les conidies.

L'optimum de croissance est indiqué par le poids maxima de la récolte obtenue, au bout d'un même nombre de jours, dans des matras identiques. A l'aide d'une boucle de platine onensemence superficiellement des ballons de 50 cc. contenant 25 cc. de Raulin normal que l'on place à 10°, 17°, 22°, 27°, 32° et 42°. Trois jours après, le contenu de chacun d'eux est tué par la chaleur et jeté sur un filtre taré. Après plusieurs lavages pour éliminer toute trace de sels minéraux adhérents, on dessèche le filtre à l'étuve et on le pèse. La différence obtenue donne le poids du mycélium.

Nous avons effectué nos pesées au bout de trois jours, afin d'avoir des différences bien marquées, car au bout de cinq à six jours, les voiles formés à la surface du Raulin s'épaississent, se feutrent, appauvrissent en oxygène l'air contenu dans le matras. en éléments nutritifs le liquide, et arrivent à présenter, dans ces conditions, un aspect et un poids à peu près semblables.

C'est dans ces conditions que furent obtenus les résultats que nous donnerons plus loin pour les trois Mucédinées dont nous avons recherché l'optimum de température.

ACTION SUR LES SUCRES ET SUR LES COMPOSÉS AZOTÉS.

Pour être assimilés par les êtres vivants, tous les aliments doivent subir préalablement une transformation moléculaire qui s'opère sous l'action de substances actives sécrétées par l'organisme et auxquelles on donne le nom d'enzymes ou diastases. DUCLAUX [17] a réussi à déceler dans l'*Aspergillus niger* la sucrase et l'amylase; BOURQUELOT [8] y a démontré en outre la sécrétion de tréhalase, d'émulsine, d'inulase et trypsine. Nous ne rechercherons que les enzymes présentant un intérêt pour la question qui nous occupe, la présure parmi les diastases coagu-

lantes, la trypsine et la caséase parmi les ferments protéolytiques; la zymase alcoolique, la sucrase, la maltase, la lactase et l'amylase parmi les ferments des hydrates de carbone.

Trypsine.— Elle transforme l'albumine en albumoses et peptones. Pour préparer le milieu-réactif, on prend parties égales d'albumine d'œuf de poule frais et d'eau distillée; on agite vivement; on passe sur un carré de tarlatane pour séparer les membranes, on répartit dans des tubes inclinés et on stérilise par tyndallisation à 100°. Le milieu est solide, de teinte blanc mat.

Les tubes sont examinés un mois après leur ensemencement, s'il y a présence de trypsine, le blanc d'œuf devient transparent, se liquéfie peu à peu et la liqueur filtrée donne la réaction du biuret (lessive de soude, 1 cc. + quelques gouttes de solution de sulfate de cuivre à 1 %, dans 1 cc. liqueur = coloration violette).

Présure et caséase. — La préparation du lait qui sert à la recherche de ces ferments, se réduit, après écrémage, à une simple stérilisation à 110°. Après quinze jours de culture, le milieu a subi :

A. — Soit une *coagulation* (qui provient parfois de la transformation du lactose en acide lactique) mais qui sera due à la présure si elle se produit dans un second essai avec du lait contenant du carbonate de chaux pur et précipité, destiné à neutraliser l'acide au fur et à mesure de sa production.

B. — Soit une *peptonification*. Les flocons de caséine sous l'action de la caséase disparaissent peu à peu « pour donner naissance à un liquide jaunâtre, un peu visqueux et opalescent ». Mais ce ferment peut être le seul produit par le champignon et « le lait sans se coaguler se transforme peu à peu en un liquide transparent et jaunâtre »

GRIMBERT [23]. Le même phénomène se produit lorsque la caséase, plus abondante que la présure, masque la présence de cette dernière et prévient son action en peptonifiant la caséine à l'état soluble.

Zymase alcoolique. — Pour l'étude de cet enzyme et des suivants, nous employons du Raulin neutre non sucré, additionné de 5 % d'hexose, que l'on répartit par 20 cc. dans de petits matras. On stérilise par tyndallisation à 80° pour éviter l'altération et après ensemencement on laisse à l'étuve à 22° pendant 15 jours. Sans analyser les produits complexes qui ont pu se former, nous recherchons seulement, par des réactions simples, les changements survenus dans la composition du milieu. Le Raulin glucosé, s'il y a sécrétion de zymase alcoolique, contient de l'alcool que nous mettons ainsi en évidence.

Dix centimètres cubes de la liqueur distillée sont divisées en deux parts. On ajoute :

1° A l'une : 1 goutte de bichromate de potasse au 1/10 + 5 gouttes d'acide sulfurique et l'on chauffe ; la coloration passe au jaune vert ;

2° A l'autre : 1 cc. d'iodure de potassium au 1/10 + 10 gouttes de lessive de soude et goutte à goutte de l'hypochlorite de soude ; il se forme de l'iodoforme reconnaissable à son odeur et à l'examen microscopique (lamelles hexagonales).

Sucrase. — Produit l'interversion du saccharose. Le lévulose formé est lévogyre et son pouvoir rotatoire est en valeur absolue beaucoup plus élevé que celui du glucose : ils réduisent tous les deux la liqueur de Fehling. Les propriétés optiques et réductrices de la solution indiquent nettement la réaction.

Maltase. — Dédouble le maltose en deux molécules de glucose. Le pouvoir rotatoire du premier est de + 138°38,

celui du second : $2 \times 52,74$; la rotation à droite de la solution est diminuée, mais on a une augmentation du pouvoir réducteur, ce dernier étant pour le maltose les $\frac{2}{3}$ environ de celui du glucose.

Lactase. — Hydrolyse le lactose et donne du glucose et du galactose. Ces trois sucres sont dextrogyres. Le pouvoir rotatoire du galactose étant un peu plus élevé que celui des deux autres, la rotation à droite sera légèrement supérieure ; mais, pour plus de certitude, nous employons le phénylhydrazine qui, dans les cas précédents, peut aussi être utile. La recherche de glucozazone se formant à chaud, soluble dans l'alcool méthylique et l'acétone diluée au demi, complètera l'examen polarimétrique.

Amylase. — Sous l'action de cet enzyme, la gelée d'amidon de consistance demi-solide, se désagrège peu à peu et donne naissance à un liquide clair ou opalescent, qui, avec l'eau iodée, prend une teinte successivement violacée, rouge (érythro-dextrines) et jaune. Quand on n'obtient plus de coloration, l'amidon se trouve remplacé par un mélange de dextrines (achroodextrines) et de maltose. « Presque toujours cependant, avec la diastase ordinaire « ou avec les sécrétions organiques réputées comme renfermant de la diastase, il se forme, entre ces deux corps, du dextrose ; c'est que cette diastase ou ces liquides renferment de la maltase. » (BOURQUELOT [8].)

LABORDE [35] a désigné sous le nom d'amylo-maltase ce double ferment qu'il croit unique et spécial à quelques moisissures, et dont l'action diffère de celle de l'amylase en ce que le terme maltose se trouve dépassé. Il a remarqué que l'*Eurotiopsis Gayoni*, l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum*, végétant sur l'amidon, le dédoublent jusqu'à le conduire au terme glucose.

PREMIÈRE PARTIE

ACTION DU CHLORURE DE SODIUM sur le développement de quelques microor- ganismes de la flore fromagère

Nos expériences ont porté sur :

- Le *Penicillium Roqueforti* Thom.
- Le *Penicillium caseicolum* Bainier.
- Le *Penicillium virescens* Bainier.
- Le *Penicillium Camemberti* Thom.
- Le *Penicillium Cabareti* sp. nov.
- Le *Penicillium Pearsoni* sp. nov.
- L'*Oidium lactis* Fres.
- Les « *Ferments du Rouge* ».
- Le *Bacillus acidi lactici* Hueppe.
- Le *Bacillus lactis aerogenes* Escherich.
- Le *Mucor racemosus* Fres.
- Le *Sterigmatocystis nigra* Van Tieghem.

Ainsi que nous l'avons exposé dans notre *Technique pour l'Etude morphologique* nous avons employé le liquide de Raulin neutre additionné de 3,5 % de caséine soluble, ou 5 % de lactose, et de doses de sel marin variant de

0 gr. 50 à 30 grammes $\%$. Ce liquide était gélatiné à 12 ou 15 $\%$, afin de nous permettre de faire des cultures en stries. Nous avons employé également, quand cela nous a été possible, le fromage blanc frais, le lait et le bouillon, stérilisés et salés aux mêmes doses.

PENICILLIUM ROQUEFORTI THOM

A été longtemps désigné dans les *Annales de Laiterie* sous le nom de *P. glaucum* ou de « modèle vert ordinaire ». Forme un mycélium épais, velouté ; émet des hyphes de dimensions variables, alternantes : tantôt hautes et dressées, tantôt courtes ou inclinées. Les conidiophores sont irrégulièrement verticillés. Ils se terminent par des phialides de 9-11 μ de long sur 2-5 μ de large, portant chacun une assez longue chaîne de conidies d'un vert bleuâtre, sphériques, mesurant 4-5 μ de diamètre. On le trouve toujours identique sur le Roquefort et les types de fromages voisins : Gorgonzola, Stracchino.

Le Penicillium Roqueforti sur lequel ont porté nos expériences provient d'un semis de pain pourri sur carotte et pommes de terre. Ce pain pourri nous a été remis par M. A. Monvoisin, chef de travaux pratiques à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, qui l'a rapporté d'une des meilleures caves de Roquefort.

On obtient ce *pain pourri* en faisant du pain avec 50 kilos de farine d'orge, 50 kilos de farine de seigle, et un levain qu'on acidifie en ajoutant un litre et demi de bon vinaigre aux 100 kilos de pâte. Cette pâte bien levée, moulée en des paillons ronds, — ces pains ont l'aspect des « boules de son » des soldats — est fortement cuite au

four ce qui rend le pain perméable. Ces pains sont ensuite portés dans une cave tempérée, humide, — déjà garnie de pains en partie moisissés ou tout au moins tapissée de bons *Penicillium*, — placés de champ et bientôt envahis par la moisissure qui pénètre le pain dans toute sa masse. Au bout d'un mois, un mois et demi, il est complètement mois. On le fait sécher à une douce température, on enlève la croûte, toute craquelée; on broie et on tamise la mie; on obtient de la sorte une poudre verdâtre qui sert au semis des conidies du *Penicillium*.

Ainsi que nous l'avons dit dans notre historique, on attache une très grande importance au choix du *Penicillium*. Il y a de très bonnes caves donnant toujours un pain pourri d'excellente qualité. Il en est de médiocres. Enfin, M. A. Monvoisin nous a dit que des essais d'ensemencement de lait avec des cultures pures de *Penicillium* sélectionnés, avaient généralement donné des résultats désastreux et qu'on était revenu partout dans la région de Roquefort, même dans les plus grandes exploitations fromagères, à l'usage du pain pourri.

Le *P. Roqueforti* a été ensemencé en stries sur des tubes de Raulin neutre lactosés, caséinés et additionnés de chlorure de sodium aux doses de $\%$ 0 gr. 50, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 20, 25 et 30 grammes et sur un tube témoin ne contenant pas de chlorure de sodium.

Raulin lactosé. — Au bout de 24 heures le tube témoin est ponctué de petites colonies blanches qui verdissent et s'élargissent le troisième jour, et couvrent toute la surface le cinquième; le huitième jour tout est recouvert d'un épais feutrage; la liquéfaction commence; elle est complète le douzième jour.

Le développement du mycélium et la formation des conidies sont retardés d'autant plus que le milieu a reçu une dose de sel plus élevée (voir page 91). Alors qu'on voit

de belles colonies vertes au bout de cinq jours sur milieux salés à 0 gr. 50 et 1 grammē % ; il n'y a encore que des pointillés verts sur le milieu à 6 grammes et de très petits points blancs sur le milieu à 13 grammes. Sur 6 grammes, la liquéfaction commence le onzième jour ; elle ne commence que le dix-neuvième jour sur 13 grammes.

Des colonies minuscules apparaissent sur 16 grammes et sur 20 grammes au bout de onze et dix-huit jours ; ces colonies arrivent à maturité les dix-neuvième et vingt-deuxième jours.

Pas de développement sur 25 et 30 grammes.

Un tube salé à 22 gr. % ne donne pas de végétation ; un tube salé à 21 grammes % donne une petite colonie vert-pâle après vingt-trois jours.

Du *Penicillium Roqueforti* vivant sur milieu salé à 13 grammes depuis quinze jours est repiqué sur 25 et 30 grammes. Rien.

Lait salé. — Croit rapidement. Tout le lait est peptonifié jusqu'à 10 grammes en 18-24 jours. Végétation médiocre sur lait salé à 15 %. Pas de croissance à 17 %.

Fromage blanc salé. — Rien au delà de 15 grammes.

PENICILLIUM CASEICOLUM BAINIER

Le Penicillium caseicolum, décrit page 75 et sur lequel ont porté nos expériences, provient de la Mycothèque de l'École de Pharmacie.

Raulin lactosé. — Les tubes témoin et salés à 0.50, 1 gr. et 2 gr. $\%$ sont envahis en neuf à dix jours.

Les tubes à 3, 4 et 6 gr. $\%$ sont recouverts d'un épais mycelium blanc en douze à quatorze jours.

Sur 8 et 10 gr., le développement est moins rapide et la hauteur des hyphes moins considérable.

Sur 13 gr., poussent de nombreuses colonies rondes, bien délimitées, qui ne se rejoignent que le vingtième jour pour donner un mince feutrage.

Rien sur 16 gr.

Sur 15 gr. $\%$, une colonie se développe très lentement et n'arrive au bout de trente-cinq jours qu'à couvrir le tiers de la surfaceensemencée.

Lait salé. — Nombreuses colonies sur lait salé à 2, 3, 5 gr. $\%$. Le lait est peptonifié en quatorze-seize jours.

Sur 10 gr. $\%$, la peptonification est partielle au bout de vingt-huit jours.

Sur 15 gr. ‰, colonie assez touffue après trente jours.

Sur 20 gr. ‰, très petite colonie.

Rien au delà.

Fromage salé. — Rien au-dessus de 14 gr. ‰.

PENICILLIUM CAMEMBERTI THOM

Donne un mycélium blanc, quelquefois blanc-jaunâtre, prenant au bout de cinq à six jours une légère coloration d'un vert-bleuâtre. Les hyphes sont élevées, peu ramifiées. Il y a généralement une seule branche latérale sur la branche principale. Les stérigmates peu nombreux et portant de longues chaînes de conidies qui divergent mollement, mesurent 8-10 μ de long sur 2-4 μ de large; les conidies d'abord cylindriques, puis elliptiques, deviennent sphériques à leur maturité et mesurent 4,5 à 5,5 μ de diamètre. THOM [60].

Nous avons isolé le P. Camemberti sur lequel ont porté nos essais d'un lot de Penicillium recueillis dans une fromagerie.

Raulin salé. — Le tube témoin est envahi en 8-9 jours.

Les tubes salés de 0,50 à 4 % sont envahis en 10-12 jours et se teintent légèrement les jours suivants.

Sur 6, 8 et 10 %, le retard atteint 12 à 14 jours, la hauteur des hyphes diminue et la fructification est plus lente.

L'épaisseur du mycélium diminue encore sur 13 % et sur 16 % se forme une petite colonie qui restera blanche même après 30 jours.

Lait salé. — Le développement est assez rapide. Pas de végétation au-dessus de 21 %.

Fromage salé. — Rien au delà de 15 %.

PENICILLIUM VIRESCENS BAINIER

Ce *Penicillium* est vert foncé, devenant avec l'âge gris-verdâtre ; il recouvre les substances sur lesquelles on le cultive d'une couche pulvérulente peu épaisse. Ses hyphes peu développées donnent naissance à de nombreuses branches latérales, rapprochées, courtes, se terminant directement par un pinceau fructifère. Les stérigmates mesurent $8\ \mu$ 4, les conidies, sphériques, $2\ \mu$ 8 de diamètre. BAINIER (1).

Nous avons trouvé le *P. virescens* sur lequel ont porté nos essais, parmi d'autres *Penicillium* récoltés sur les murs d'une fromagerie. Nous l'avons étudié sous le nom de « *P. très vert* » avant de l'identifier.

Raulin salé. — Le tube témoin est totalement envahi le huitième jour.

L'envahissement est total sur les tubes salés à 0,50, 1, 2, 3, 4 % les neuf, dix, onze et douzième jours.

Sur 8 et 10 %, de petites colonies blanches n'apparaissent que le dixième jour et ne verdissent que le quatorzième.

Le retard est encore plus marqué sur les tubes salés à

(1) Bulletin Société Mycologique, 1907, p. 12.

13, 16 et 20 ‰. Sur ce dernier tube, de très petites colonies blanches ne verdissent que le vingt-quatrième jour.

Pas de trace de végétation sur 25 ‰. Rien sur 23 ‰. Très petite colonie sur 21 ‰.

Lait salé. — Beau voile très vert au bout de 7-8 jours sur tube témoin et après 9-10 jours sur tube salé à 2 ‰. Petite colonie se développant lentement sur tubes salés à 5 et 10 ‰. Très petite colonie sur tube salé à 15 ‰. Rien au-delà.

Fromage salé. — Rien au delà de 13 ‰.

PENICILLIUM CABARETI SP. NOV.

Le Penicillium Cabareti, décrit page 63, a été trouvé sur la croûte d'un vieux fromage de Brie.

Raulin lactosé. — Le tube témoin est entièrement recouvert, le cinquième jour, d'un mycélium qui jaunit le sixième. La liquéfaction commence le septième jour et est complète le douzième.

Sur les tubes salés à 0.50, 1 gr., 2 gr., 3 gr. %, l'envahissement est complet les six, sept et huitième jours et la liquéfaction totale le quatorzième jour.

Sur les tubes salés à 4, 6 et 8 gr. %, l'envahissement est complet les huit-dixième jours et la liquéfaction totale les dix-huit-vingtième jours.

Sur 10 gr. %, l'envahissement est complet le treizième jour ; la liquéfaction commence le seizième jour, pour s'achever lentement.

Sur 13 gr. %, l'envahissement est complet le quinzième jour, mais la liquéfaction n'est pas achevée le trentième jour.

Sur 16 et 20 gr. %, les colonies se développent lentement et ne fructifient que les dix-huit et vingt-deuxième

jours. Une petite colonie vit sur 22 gr. sans se développer.
Rien au delà.

Lait salé. — Pas de végétation au-dessus de 16 gr.

Fromage salé. — Même observation.

PENICILLIUM PEARSONI SP. NOV.

Le Penicillium Pearsoni, décrit page 69, a été isolé d'un lot de champignons recueillis sur les murs d'une fromagerie.

Raulin lactosé. — Le développement est un peu plus rapide au début sur les tubes salés à 0.50, 1 gr. et 2 gr. % que sur le tube témoin qui n'est totalement envahi que le dixième jour, alors que les trois tubes précédents sont recouverts d'un mycélium noircissant dès le huitième jour. La végétation est totale sur tube salé à 3 gr. % le douzième jour ; sur 4 gr., le quatorzième ; sur 6 gr., le seizième jour.

Il y a une large colonie sur 10 gr. et une petite colonie sur 13 gr. le vingtième jour. Rien au delà, même après un mois.

Lait salé. — Pas de végétation au-dessus de 12 gr. de sel.

Fromage salé. — Même observation.

OIDIUM LACTIS FRESENIUS

(Genre *Oidium* Link 1809)

Ce champignon, mentionné pour la première fois par Desmazières (1826) et étudié par Fresenius (1852), présente les caractères suivants :

Le thalle est irrégulièrement cloisonné, la longueur des articles diminuant à mesure que l'on se rapproche des extrémités.

Chaque filament se ramifie en branches latérales naissant au-dessus d'une cloison et ne se développant le plus souvent que d'un même côté de l'axe ; les oïdies ne se forment que lorsque l'accroissement du thalle est terminé. Le mycélium se fragmente et dans les cultures âgées on ne distingue plus que des hyphes mélangées d'un assez grand nombre d'oïdies mycéliennes. Ces corpuscules sont très variés de formes et de dimensions, parfois rectangulaires, parfois cubiques et même sphériques ; l'aspect varie avec la nature du milieu nutritif.

L'*Oidium lactis* se développe sur les fromages en même temps que les autres champignons. Lorsque ceux-ci recouvrent le fromage d'une légère couche de duvet (MAZÉ) [43], l'*Oidium* devient visible à son tour par les plissements qu'il forme à la base de la moisissure. Ce plissé doit rester très adhérent au caillé et faire corps avec la pâte. DUCLAUX [15], ECKLES [18] et MAZÉ ont étudié et fixé son rôle dans la maturation des fromages.

L'Oidium lactis sur lequel ont porté nos expériences a été isolé par nous de la pâte d'un fromage de Camembert. Des essais faits

dans les mêmes conditions avec un Oidium lactis que nous a procuré M. le Professeur-agrégé Guéguen, et qui provenait de l'intestin d'un lapin, nous ont donné des résultats identiques.

Nous ensemençons sur notre Raulin salé aux doses connues.

L'envahissement du tube témoin est total le dixième jour, tandis qu'il est des $\frac{3}{4}$ sur le tube salé à 0 gr. 50 %, des $\frac{2}{3}$ sur 1 gr., de la $\frac{1}{2}$ sur 2 gr., de $\frac{1}{4}$ sur 3 gr. Il n'y a qu'une large colonie étoilée sur 4 gr. et une petite trace de colonie sur 6 gr. %.

Le quatorzième jour, la liquéfaction du tube témoin commence, pour être totale le vingt-troisième. Le tube salé à 0 gr. 50 n'est liquéfié que le trentième jour et la liquéfaction commence le trente-deuxième jour seulement dans le tube salé à 3 gr. %.

Sur Raulin salé à 7 gr., pas de croissance.

L'*Oidium* vivant sur 3 gr. de sel a été repiqué sur milieux salés à 8-10 et 13 gr. %. De très petites colonies ont pu se développer sur 8 et 10 gr. Rien au delà.

Lait salé. — Jusqu'à 9 gr. % de sel, il n'y a pas de transformations dans la forme de l'oidium (petits tonnelets); au delà, le nombre des oidies diminue et elles affectent la forme de *huit* ou de gros *cocci*. Rien au-dessus de 12 gr.

Fromage salé. — Rien au delà de 8 gr.

FERMENTS DU « ROUGE »

Bactéries et Levures

Les ferments du « rouge » se développent bien sur les milieux solides additionnés de peptone et de sucre, sur les fromages où ils trouvent des produits azotés de décomposition de la caséine, préparés par les champignons. Ils solubilisent lentement la caséine. La saveur qu'ils communiquent au lait est agréable et rappelle celle du consommé. Les cultures très vieilles possèdent un goût de vieux fromage. Quand, après plusieurs semaines, des produits de dégradation avancée se sont formés dans les cultures, on voit apparaître dans les régions superficielles du lait digéré, une couleur rouge qui gagne progressivement toute la masse du liquide. Cette coloration apparaît plus vite sur les fromages que sur les milieux de culture, parce que les microbes y trouvent les produits dégradés tout préparés et qu'ils y sont en contact plus direct avec l'oxygène de l'air (MAZÉ, *Technique fromagère*, page 416).

FLEURENT [19] a décrit un bacille rouge orangé — le *B. Firmitatis* extrait par Roger du fromage de Brie — qui produit un *caséum légèrement glaireux* et fournit des produits ammoniacaux capables de saturer les couches profondes. Mazé le considère comme un bacille banal.

Ces « ferments du rouge » dont le rôle a été longuement signalé par Duclaux et « qui doivent triompher du *blanc* » c'est-à-dire des mucédinées qui tapissent la surface du fromage sont encore mal définis. Duclaux écrivait (1) « on voit apparaître çà et là au-dessous de la couche de blanc, surtout dans les petites dépressions creusées par les brins de jonc sur lesquels repose le fromage, une couche rougeâtre formée d'une masse glaireuse de bactéries de diverses espèces ». Mazé en a étudié quarante espèces.

(1) *Principes de lacterie*, page 356.

Les « ferments du rouge » sur lesquels ont porté nos recherches ont été pris par nous sur un fromage de Brie à la surface duquel ils étaient récemment apparus. Nous avons puisé directement dans la couche rougeâtre, glaireuse, décrite ci-dessus. L'action de ces nombreuses bactéries ou levures étant identique sur le fromage, nous avons étudié sur leur ensemble, l'action du chlorure de sodium, leur différenciation et leur identification nous semblant aussi inutiles que malaisées.

Raulin lactosé. — Ensemencés sur notre Raulin salé aux doses connues, ces ferments du rouge se sont développés très lentement donnant de petites colonies cireuses.

Une pigmentation rougeâtre est apparue dans tous les tubes salés jusqu'à 6 grammes % inclus, dans un délai de dix-huit à vingt-deux jours.

Sur 8, 10, 13 grammes %, de minuscules taches cireuses de quelques millimètres de diamètre s'accroissent très lentement. Leur diamètre est de 5 à 8 millimètres au bout de trente-cinq à quarante jours.

Sur 16 et 20 grammes % la croissance est encore plus lente. Pas de coloration.

Rien au-delà.

Les colonies sur tubes salés à 2, 3 et 4 grammes % sont plus colorées que les autres.

Lait salé. — Coagulation partielle jusqu'à 10 gr. %, ces ferments existent dans le lait jusqu'à 15 grammes %.

BACILLUS ACIDI LACTICI HUEPPE

Courts bâtonnets immobiles, mesurant en moyenne $1,7\ \mu$, mais dont la longueur peut varier entre $1\ \mu$ et $2,8\ \mu$; la largeur est plus fixe, de $0,6\ \mu$ environ. Ils sont isolés ou réunis par deux ou en chaînes, d'un petit nombre d'articles la plupart du temps. Cette espèce est très commune dans le lait qu'elle vient contaminer dès qu'il est exposé à l'air et où elle se développe très bien aux dépens du lactose. Elle acidifie peu à peu le liquide, très légèrement alcalin au moment de sa sortie du pis, et peut, si les circonstances de température sont favorables, produire une quantité d'acide lactique telle que le lait se coagule dès qu'on le chauffe, ou même spontanément à la température ordinaire (Macé, *Traité pratique de bactériologie*).

Le Bacillus acidi lactici sur lequel ont porté nos essais provient de l'Institut Pasteur.

Lait salé. — Le témoin et les tubes salés à 0,50, 1, 2, 3, 1% sont coagulés en quatre à dix jours. Le tube salé à 6% est coagulé en quatorze jours. La coagulation est partielle dans le tube salé à 7%. Pas de changement dans le tube à 8%.

Bouillon salé. — Pas de développement au delà de 6%.

BACILLUS LACTIS AEROGENES ESCHERICH

Escherich l'a rencontré avec le *B. coli communis* dans l'intestin de l'homme et des animaux nourris de lait. Il se présente sous la forme de bâtonnets courts et épais, à extrémités arrondies, mesurant 1 à 2 μ de longueur sur une largeur de 0,5 à 1 μ . Ils sont unis par deux ou forment de petits amas.

Il coagule rapidement le lait; il y produit une forte proportion d'acide lactique, mais ne modifie pas la caséine. Macé. [41].

Si le *B. lactis aerogenes* est abondant dans le lait, sa présence se révèle par un dégagement de bulles de gaz qui forment une mousse grossière, différente de celle que produit l'acide carbonique dans la fermentation alcoolique. S'il existe dans le lait utilisé en fromagerie, le caillé se gonfle dans les moules et prend quelquefois l'aspect de véritables éponges. Mazé le range dans la catégorie des ferments propioniques causant les maladies du caillé acide.

Le B. lactis aerogenes sur lequel ont porté nos expériences provient de l'Institut Pasteur.

Bouillon salé. — Développement rapide dans bouillon témoin, plus lent dans les tubes salés. Le bouillon salé à 10‰ ne se trouble pas après vingt-cinq jours. Léger trouble dans le bouillon salé à 9‰.

MUCOR RACEMOSUS FRESENIUS

(*Pleurocystis Fresenii* BONORDEN ;

Chlamydomucor racemosus BREFELD).

Mycélium dont la végétation étouffée produit des oidies en forme de levures. Hyphes sporangifères septées, bifurquées ou irrégulièrement rameuses, hautes de 400 à 500 μ . Sporangies terminaux, globuleux, de 40-60 μ , jaunes pâles à peine visibles à l'œil nu, à columelle ovale; spores globuleuses ovoïdes, de $5-8 \times 4-5 \mu$, hyalines. Zygosporos globuleuses, de 70-84 μ , à membrane externe fauve, ornée de protubérances coniques brun rougeâtre. Chlamydospores abondantes, tant dans le thalle que dans le sporophore, jaunâtres, lisses, sphériques, ellipsoïdes, ovoïdes ou en tonnelet, de 11-20 à 20-30 μ . GUÉGUEN [28].

Le Mucor racemosus sur lequel ont porté nos expériences provient d'un semis de pain pourri de Roquefort, sur carotte et sur pomme de terre. (Nous avons toujours rencontré le Mucor racemosus sur les fromages de Roquefort que nous avons examinés).

Raulin lactosé. — L'envahissement des quatre premiers tubes est complet le cinquième jour, tandis que le mycélium occupe le $\frac{1}{3}$ de la surface du tube salé à 3 gr. et la $\frac{1}{2}$ du tube salé à 4 gr. Il y a une large colonie dans le tube salé à 6 grammes.

Le sixième jour, le tube 3 gr. est complètement envahi, le tube 4 gr. l'est le huitième, et l'envahissement n'est complet dans le tube 6 gr. qu'au bout de quatorze jours. Rien au delà.

Un ensemencement sur Raulin salé à 7 % donne une colonie de peu d'étendue, même au bout de vingt jours. Les hyphes atteignent seulement le $\frac{1}{3}$ de la hauteur normale.

Du *Mucor* vivant bien depuis quinze jours, sur tube salé à 4 gr. est repiqué sur 8, 10, 13, 16 et 20 gr. Il donne de très petites colonies sur 8, 10, 13 gr. et une colonie stérile sur 16 grammes.

Lait salé. — Le *Mucor racemosus* se développe assez rapidement dans le lait salé jusqu'à 5 gr. %. La peptonification est complète en 18-24 jours. Il végète lentement dans le lait salé à 6 et 7 gr. et donne une très faible colonie au bout de vingt-huit jours dans le lait salé à 8 gr. Rien au delà. Ces trois derniers tubes sont coagulés partiellement.

Fromage blanc salé. — Se développe, en douze jours, sur fromage salé à 6 gr. %; croissance plus lente sur 7 gr.; très petite colonie stérile sur 8 gr. Rien au delà.

STERIGMATOCYSTIS NIGRA (*Van Tieghem*) CRAMER

Mycélium ténu, blanc, conidiophores dressés, de 800 à 1.000 sur 11 à 16 μ , à membrane épaisse, hyaline, parfois légèrement fuligineuse supérieurement, renflés brusquement en vésicule sphérique d'environ 30 μ , recouverte de toutes parts de basides rayonnantes, claviformes de 40 μ de long, couronnées chacune d'environ quatre stérigmates longs de 8 à 10 μ , obclavulés. Conidies globuleuses de 3,4 à 4,5 μ finement verruculeuses, d'un brun-violacé, brun chocolat ou brun-noirâtre vues en masse. Sclérotés globuleux ou cylindroïdes, brun-rougeâtre de 0,5 à 1,5 $m m$ enveloppés d'un épais feutrage mycélien blanchâtre. Optimum vers 37° (1).

Le Sterigmatocystis nigra sur lequel ont porté nos recherches provient de la Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie.

Raulin salé. — Le développement rapide sur le tube témoin est retardé de quatre à douze jours sur les tubes salés à 0 gr. 50, 1, 2, 3, 4 grammes. Ce retard est plus considérable et les colonies moins vigoureuses sur tube 6 grammes. Petite colonie sur 7 gr. % après vingt-cinq jours. Rien au delà.

Lait salé. — Rien au delà de 6 %.

Fromage salé. — Même observation.

(1) D'après Guéguen. *Les champignons parasites de l'homme* (p. 171).

Tableau récapitulatif des doses % de chlorure de sodium suffisantes pour arrêter le développement des microorganismes.

	DOSE DE SEL P. 0/0 SUR			
	RAULIN	LAIT	FROMAGE	BOUILLON
<i>Penicillium Roqueforti</i>	21	16	15	
<i>Penicillium Caseicolum</i>	15	20	14	
<i>Penicillium Camemberti</i>	16	21	15	
<i>Penicillium virescens</i>	21	15	13	
<i>Penicillium Cabareti</i>	22	16	16	
<i>Penicillium Pearsoni</i>	13	12	12	
<i>Oidium lactis</i>	8	12	8	
Ferments du « Rouge ».....	20	15		
<i>Bacillus acidi lactici</i>		7		6
<i>Bacillus lactis aerogenes</i>				10
<i>Mucor racemosus</i>	7	8	8	
<i>Sterigmatocystis nigra</i>	7	6	6	

En résumé, si l'action retardatrice exercée par le chlorure de sodium sur le développement des champignons et des bactéries est sensiblement la même sur

toutes les espèces, la dose de chlorure de sodium nécessaire pour arrêter la végétation varie avec les espèces et aussi, tout naturellement, avec les milieux de culture.

Les *Penicillium* supportent des doses élevées de chlorure de sodium. Tous ceux que nous avons étudiés ont, à l'exception du *P. caseicolum*, supporté des doses plus élevées sur le liquide de Raulin que sur les autres milieux. Ils vivaient mieux sur le lait qui, après le Raulin, leur offrait un meilleur aliment que le fromage.

Le *Mucor racemosus* et le *Sterigmatocystis nigra* ne résistent qu'à des doses relativement faibles de chlorure de sodium, c'est ce qui explique que le premier ne se développe que maigrement, et que le second n'apparaît que rarement sur des fromages dont le salage est probablement insuffisant.

Les « Ferments du Rouge » (bacilles et levures) se montrent plus résistants.

L'*Oidium lactis*, le *Bacillus acidi lactici* et le *Bacillus lactis aerogenes* ne supportent que les doses maxima de 6 à 12 %.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE

DU

***PENICILLIUM CABARÉTI* SP. NOV.**

Nous avons isolé ce *Penicillium*, trouvé avec diverses moisissures sur un vieux fromage de Brie. Il est très caractéristique en raison de sa couleur jaune verdâtre (222 C. d. C.). (1) Il donne des hyphes aériennes qui forment un feutrage épais, durcteux, d'une épaisseur de 5 à 8 m/m. Ces hyphes aériennes très développées, assez rarement ramifiées, cloisonnées, forment des touffes se terminant par un pinceau fructifère. Ces pinceaux sont nombreux. Les verticilles sont composés de courts rameaux auxquels font suite les stérigmates portant eux-mêmes les conidies. Il se produit assez rarement des ramifications secondaires. La fructification est construite sur le type classique des *Penicillium*, avec plusieurs étages de courts rameaux superposés, nés chacun au-dessous d'une cloison et dont les supérieurs donnent un verticille de stérigmates conidifères.

Les conidies rondes mesurent de 3 à 4 μ .

Les stérigmates peuvent atteindre une longueur de 12 à 14 μ et la largeur des filaments est d'environ 2,5 à 3 μ .

La germination n'offre rien de particulier. Chaque conidie

(1) Nous avons utilisé, au cours de ce travail, la Chromotaxie nouvelle publiée par P. KLINCKSIECK et VALETTE en 1908, sous le titre de *Code des Couleurs* (C. d. C.) et inspirée des Cercles chromatiques de CHEVREUL.

germe en émettant un filament mycélien qui se cloisonne, se ramifie et fructifie au bout de cinq à six jours.

Le *P. Cabareti* se distingue nettement du *P. luteum*, ZUKAL, par sa couleur jaune verdâtre et non jaune d'œuf, par la forme de ses conidies, toujours rondes et non pas elliptiques. Enfin, tandis que le *P. Luteum* liquéfie incomplètement et très lentement la gélatine, le *P. Cabareti* la liquéfie entièrement et très rapidement.

Aspect sur différents milieux de culture

(Etuve à + 22°)

Carotte. — Après vingt-quatre heures, nombreuses petites touffes blanches. Quelques conidies arrivent à maturité le troisième jour. Le cinquième, presque toute la surface de la carotte est envahie. Le mycélium est épais, feutré, la hauteur des rameaux fertiles atteint 2 m/m 50 à 3 millimètres. Le huitième jour la carotte est entièrement recouverte d'une abondante floraison jaune verdâtre (222 du Code des couleurs).

Pomme de terre. — Après quarante-huit heures, pousses blanches, épaisses, qui s'étendront assez rapidement en produisant une sorte de boursoufflement de la pomme de terre qui vient à certains endroits s'écraser sur les parois du tube. La fructification est tardive. La teinte jaunâtre, due à la maturité des conidies, ne se manifeste sur quelques points qu'au bout de 16 jours et ce n'est qu'au bout de 25 jours que cette maturation est générale sur toute la surface de la pomme de terre.

Pomme de terre acide. — L'évolution est encore plus lente.

Pomme de terre glycinée. — La végétation est extrêmement rapide. Après 24 heures, un mycélium abondant apparaît, deux fois plus considérable comme hauteur et largeur que sur la pomme de terre simple. Quelques coni-

dies arrivent à la maturité le sixième jour ; la maturation est générale le huitième. Les colonies affectent une forme mamelonnée particulière et le phénomène de gonflement de la pomme de terre se produit ; les hautes touffes soyeuses viennent s'écraser sur les parois du tube.

Bouillon gélosé. — Après 24 heures, touffes légères. Le troisième jour, feutrage abondant ; rameaux très courts ; la fructification commence le septième jour ; la culture a l'aspect poussiéreux.

Bouillon gélatiné. — Végétation abondante au bout de 24 heures : grand nombre de petites touffes blanches. Le deuxième jour la liquéfaction commence ; elle est complète cinq jours après. Le feutrage qui a jauni le troisième jour passe au brun noir le dixième jour.

Albumine d'œuf cuite. — Croît lentement. Petites colonies ponctuées, d'abord blanches, jaunissant au bout de 6-7 jours et prenant la teinte brun clair (133, C. d. C.)

Milieu caséine-lactose. — Petites touffes blanches jaunissant le sixième jour. La liquéfaction commence le huitième jour, et s'achève le onzième jour. Le mycélium prend une couleur violet-rouge (572, C. d. C.).

Bouillon. — Colonies peu abondantes. Forme au bout de 8-10 jours un voile peu épais. La partie supérieure prend la teinte ordinaire (222, C. d. C.). La partie immergée est de couleur jaune pâle.

Lait. — Végétation peu abondante durant 5 à 6 jours. S'accroît le 8-10^e jour, jaunit le 12^e, le lait est peptonifié en 22-24 jours.

Raulin normal. — Un îlot blanc se constitue le deuxième jour ; il atteint toute la largeur du tube le quatrième, se recroqueville le cinquième et sa partie submer-

gée se colore d'abord en jaune foncé ; la partie immergée croît et se colore de plus en plus. Le vingtième jour sa couleur et celle du liquide sont identiques (nuance 78 du Code des couleurs).

Raulin glucosé. — L'ilot blanc formé donne un épais voile, submergé au bout de quatre jours. La partie flottante est jaune verdâtre ; la face inférieure jaune serin (236, C. d. C.). Le voile se recroqueville et plonge entièrement dans le liquide qui est à peine coloré.

Raulin lactosé. — L'ilot d'abord blanc (jaunâtre le 4^e jour) émet des filaments submergés très fins et très abondants. Le sixième jour, la face flottante est jaune verdâtre, la partie immergée, duveteuse, jaunit le 10^e jour (241, C. d. C.). Le liquide n'est pas coloré.

Raulin maltosé. — Voile plus large, épaissit rapidement, donne un mycélium blanc à la surface ; et jaunit le sixième jour ; la partie immergée peu étendue se colore en jaune serin (236, C. d. C.). Pas de coloration du liquide.

Milieux sucrés. — D'après la vigueur et l'étendue des cultures on peut ranger les sucres les mieux assimilés dans l'ordre suivant : glucose, maltose, saccharose, lactose.

Influence de la température :

Température	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture en 1 jour sur Raulin	POIDS du Mycélium après 3 jours sur Raulin
10°	Filaments courts non cloisonnés.....	160
17°	Filaments courts non cloisonnés.....	200
22°	Filaments ramifiés, apparition des appareils conidiens.....	248
27°	Filaments très allongés et organes reproducteurs.	375
32°	Quelques conidies germent.....	190
37°	Rien.....	0
42°	Rien.....	0

La température la plus favorable au développement du *Penicillium Cabareti* est de 25° à 30°.

Action sur les composés azotés :

Albumine d'œuf cuite. — Les colonies jaunissent en 6-7 jours et prennent ensuite une teinte brun clair. Le milieu ne subit aucune liquéfaction.

Lait saturé de craie. — Le développement est lent, en 22-24 jours le lait est complètement transformé en liquide jaunâtre et transparent.

Caséine. — Le cube se délite en donnant un liquide trouble.

Action sur les Hydrates de Carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution de ferments).

Saccharose. — Il y a interversion et la solution renferme par litre (18 g. 5) (en glucose) de sucre réducteur.

Maltose. — L'augmentation du pouvoir réducteur et une déviation inférieure de 1°-46 au polarimètre indiquent le dédoublement de ce sucre.

Lactose. — Aucun changement.

Glucose. — Il y a production d'alcool.

Empois d'amidon. — Pas de liquéfaction.

Production de pigment.

Le *P. Cabareti*, donne un pigment brun clair, soluble partiellement dans l'alcool à 90°, dans l'alcool-éther : plus

soluble dans l'éther, l'éther de pétrole, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'acétone, l'acétone-éther. L'action des réactifs usuels est la suivante :

Ammoniaque : violacé pâle. — *Soude* : violet évêque.
— *Potasse* : même coloration.

Acide chlorhydrique : le pigment vire à la teinte pelure d'oignon. — *Acide sulfurique* : rouge un peu plus foncé. — *Acide azotique* : avive légèrement la couleur. — *Acide phosphorique* : pelure d'oignon. Pas de changement avec les acides *acétique, oxalique, phénique, l'aldéhyde formique*.

L'eau de chaux le fait passer au violet. Faible décoloration par l'eau oxygénée. Pas de décoloration par l'eau de chlore et en présence de l'acide sulfurique et du zinc.

Le pigment colore les tissus en rouge ; la teinte, assez tenace, passe au violet-lilas en présence des alcalis.

En résumé, ce pigment présente tous les caractères des lipochromes étudiés par ZOPF [65] récemment signalés par SARTORY et BAINIER [57] dans plusieurs espèces d'*Aspergillus*, et dans beaucoup d'autres Mucédinées étudiées actuellement par ces auteurs.

ÉTUDE

DU

PENICILLIUM PEARSONI SP. NOV.

Nous avons trouvé cette espèce sur les murs d'une fromagerie. Elle se distingue par sa couleur verdâtre foncée, devenant en vieillissant d'un gris noirâtre.

Les cultures sur réglisse donnent des hyphes aériennes peu développées en hauteur; cependant elles donnent naissance à un feutrage mycélien assez épais de couleur blanche, qui verdit au bout de trois à quatre jours et atteint le septième ou huitième jour la couleur 375 qui sera d'ailleurs toujours sensiblement la même sur tous les milieux solides.

Les hyphes donnent naissance à de nombreuses branches latérales, rapprochées les unes des autres et se terminant par un pinceau fructifère relativement étalé. Les pinceaux conidiens sont assez simples; les stérigmates, relativement courts, mesurent de 6 à 8 μ de hauteur sur 2 à 3 μ de largeur. Ils sont groupés en verticilles généralement par 3 ou 4 et se terminent chacun par un chapelet de conidies sphériques de 2 à 3 μ .

Les conidies du *P. Pearsoni*, mises à germer en culture cellulaire, arrivent au bout de dix-huit heures à quadrupler leur diamètre et présentent à leur centre une vacuole. Elles émettent un tube assez long qui grandit peu à peu, se cloisonne et émet latéralement des ramifications assez nombreuses. Au bout de trois ou

quatre jours, nous assistons au début de la formation des appareils reproducteurs qui présentent les caractères indiqués ci-dessus. Le mycélium immergé ressemble à celui des *Penicillium* classiques. Ses filaments, très légèrement ondulés, sont rayonnants, cloisonnés, ramifiés et de diamètre sensiblement égal à celui des filaments aériens.

Le *P. Pearsoni* se distingue nettement du *P. griseum* BORDEN, par la forme de ses conidies, toujours sphériques et non pas ovales, et par sa couleur nettement noirâtre. Celle du *griseum* est indiquée comme étant un peu plus éteinte que celle du *P. glaucum*.

Aspect sur différents milieux de culture

(Étuve à 22°)

Carotte. — Début de végétation signalé par l'apparition de petites touffes blanches au bout de 18 heures. Leur nombre augmente le troisième jour et elles s'accroissent en formant des amas rectangulaires distincts, donnant à la surface de la carotte un aspect imbriqué. Les conidies arrivent à maturité le huitième jour. Leur teinte verdâtre se fonce et au bout de quinze jours toute la surface de la carotte est recouverte d'un mycélium épais, feutré d'une teinte vert foncé (198, C. d. C., puis 375).

Pomme de terre. — Après 48 heures, apparaissent quelques petites colonies rondes, très touffues, très blanches, qui se rejoindront le quatrième jour et dont le centre verdira ; les huit et dixième jours, la maturation s'achève, ces colonies se rident, se plissent, leur couleur est noirâtre (173, C. d. C., puis 274 et 375). Après vingt jours, la surface de la pomme de terre n'est pas complètement envahie.

Pomme de terre acide. — Évolution plus lente.

Pomme de terre glycinée. — Petites touffes au bout de 24 heures, mycélium blanc, feutré, émettant des hyphes qui atteindront $2^m/m$ le troisième jour et donneront des conidies verdâtres, puis noirâtres le quatrième. Ces pousses noirâtres, très épaisses, donnent le huitième jour, sur tout leur pourtour, une coloration jaune clair qui atteint ensuite la nuance 131 du C. des C. Au bout de dix jours, la pomme de terre est entièrement recouverte d'un épais feutrage (375, C. des C.).

Bouillon gélosé. — Nombreuses traces cirqueuses ponctuées de points blancs. Au bout de trois jours, ces petites colonies se foncent et toute la surface du tube est semée de points verdâtres entourés de points blancs (aspect d'un granité bicolore) : le dixième jour, tout est gris-vert ; ensuite, la culture brunit et prend une teinte très foncée (375, C. d. C.).

Bouillon gélatiné. — Même évolution que ci-dessus pendant les trois premiers jours ; le quatrième, la liquéfaction commence pour être totale le dixième jour. La culture, qui demeure fixée sur une pellicule occupant diagonalement le tube, est brune.

Albumine d'œuf cuite. — Colonies mamelonnées, pulvé-rulentes, blanches au début, se foncent vers le 12-14^e jour et prennent une teinte brun foncé (139, C. d. C.).

Milieu lactose-caséine. — Evolution lente. Quelques points blancs augmentent de volume le sixième jour, noir-cissent le huitième et produisent le dixième une liqué-faction qui est complète le quatorzième. Colonie noire, aspect poussiéreux.

Bouillon. — Le voile se forme assez rapidement. D'a-bord blanc, il noircit en 3-4 jours, puis augmente d'épais-

seur et se ride ; la partie immergée est de teinte brun foncé (105, C. d. C.).

Lait. — Croissance assez rapide. Le lait est peptonifié en 18-20 jours.

Raulin normal. — Un ilot blanc constitué le premier jour, noircit le second et forme un mycélium immergé, blanc, qui atteint 250 à 300 μ . le quatrième jour. La colonie noire flottante augmente un peu de volume, puis se ride, se plisse et baigne en grande partie dans le liquide, tout en donnant à sa face inférieure un mycélium blanc très abondant. Le liquide n'est pas coloré.

Raulin glucosé. — Un très petit ilot, blanc le premier jour, se ponctue dès le second, s'agrandit très lentement et commence à donner le cinquième jour des touffes immergées qui augmentent rapidement de volume et dont les bords se colorent en jaune orangé le septième jour (166, C. des C.). Les jours suivants, cette coloration devient plus foncée (156, C. des C.). Le treizième jour, le liquide se colore en jaune clair et au bout d'une vingtaine de jours prend la teinte 156 du C. des C. La face supérieure du mycélium se ride et garde la couleur habituelle du *Penicillium* arrivé à maturité.

Raulin lactosé. — Tout petits ilots blancs verdissant le quatrième et prenant la teinte vert-noir habituelle le sixième jour. Ils se réunissent le septième et donnent une légère pousse immergée le huitième qui se colore et colore le liquide en jaune très clair. Le mycélium est peu abondant, même au bout d'un mois.

Raulin maltosé. — Evolution lente au début. Les petits ilots blancs qui se sont formés noircissent le septième jour et donnent des filaments immergés jaune orangé

(161, C. d. C.), puis 156, enfin de nuance 131, au bout d'une vingtaine de jours. Le liquide s'est coloré dans les mêmes teintes.

Milieux sucrés. — D'après la vigueur et l'étendue des cultures, on peut ranger les sucres les mieux assimilés dans l'ordre suivant : glucose, maltose, saccharose, lactose.

Influence de la température :

Température	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture en 1 jour sur Raulin	POIDS du Mycélium après 3 jours sur Raulin
10°	Filaments courts cloisonnés.....	190
17°	Filaments courts cloisonnés.	240
	Filaments ramifiés, apparition des appareils conidiens.	380
22°	Filaments très allongés et organes reproducteurs.	420
27°	Filaments courts, quelques conidies.	200
32°	Rien.....	0
37°	Rien.....	0
42°	Rien.....	0

La température la plus favorable au développement du *Penicillium Pearsoni* est de 25 à 30°.

Action sur les composés azotés :

Albumine d'œuf cuite. — Développement assez lent de petites colonies brunes ne produisant aucune liquéfaction du liquide.

Lait saturé de craie. — Développement relativement rapide. Le lait est peptonifié en dix-huit jours.

Caséine. — Le cube se délite et donne un liquide trouble.

Action sur les Hydrates de Carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution de ferments) :

Saccharose. — Il y a interversion et la solution renferme par litre 16.80 (en glucose) de sucre réducteur.

Mallose. — Ce sucre est dédoublé ; déviation inférieure de 1°-36 au polarimètre.

Lactose. — Pas de changement.

Glucose. — Il y a production d'alcool.

Empois d'amidon. — Pas de liquéfaction.

Production de pigment :

Le *P. Pearsoni* donne un pigment que nous avons étudié et qui offre, un peu plus accentués, les caractères indiqués pour le pigment du *P. Cabareti*.

ÉTUDE

DU

PENICILLIUM CASEICOLUM BAINIER

BAINIER [5] a récolté sur un fromage de Camembert un *Penicillium* dont les caractères morphologiques seuls ont été décrits et qui diffère beaucoup du *P. Camemberti* que THOM [61] a isolé d'un fromage de même substance.

Tandis que le *P. Camemberti* est d'abord blanc, puis glauque, le *P. caseicolum* est remarquable par sa blancheur de neige et par la longueur relative des hyphes qui servent de support à l'appareil conidifère. Si l'on vient à semer une de ses conidies, on remarque dès le lendemain que son diamètre est devenu deux ou trois fois plus grand, et qu'elle germe en émettant des filaments d'une largeur de 5 à 6 μ . Le mycélium devient de plus en plus abondant les jours suivants et ce n'est que vers le sixième ou septième jour, quelquefois même plus tard, que se montrent les fructifications. Toutes sont construites sur le même type, et l'on ne rencontre pas, dans cette espèce, ces premiers appareils fort simplifiés qui chez presque tous les autres *Penicillium* commencent à se former dès le lendemain de la germination des conidies. Les hyphes aériennes qui supportent le pinceau conidifère ont une longueur dépassant souvent 5 m/m . Ces longs cylindres rectilignes ou très légèrement ondulés, très rarement ramifiés, sont cloisonnés de distance en distance. Pour former le pinceau fructifère, le filament

dressé émet près de son sommet une première branche latérale au-dessous d'une cloison formant ainsi deux ramifications qui, à leur tour et de la même manière donnent chacune une nouvelle branche latérale. Les rameaux qui résultent de cette nouvelle formation se comportent comme ceux qui leur ont donné naissance. Le nombre des étages que forment les ramifications superposées est ordinairement restreint. Souvent, au lieu d'une seule branche latérale, il se produit un verticille de 3 ou plus rarement 4 rameaux. Les dernières ramifications portent toutes à leur sommet de 3 à 6 stérigmates longs de 16,8 μ surmontés d'un chapelet de conidies. Les conidies sont lisses, sphériques, incolores et mesurent 5,6 μ .

Aspect sur différents milieux de culture

(Etuve à + 22°)

Carotte. — Petites touffes blanches formant le cinquième jour des colonies mamelonnées très épaisses. La fructification a lieu dès le quatrième jour. Toute la surface de la carotte est couverte le huitième jour.

Pomme de terre. — Croissance plus rapide ; le mycélium donne des hyphes de plus grande taille ; en six jours toute la surface de la pomme de terre est couverte d'un duvet, soyeux, très blanc, atteignant 3,5 à 4 millimètres.

Pomme de terre acide. — Comme ci-dessus, mais croissance moins rapide et pousses moins élevées.

Pomme de terre glycinée. — La rapidité de croissance n'est pas plus grande que sur pomme de terre simple, mais le feutrage est encore plus épais et les pousses plus hautes : de 5 à 6 millimètres de hauteur le septième jour elles atteignent 7 à 8 millimètres le dixième.

Bouillon gélolé. — Toute la surface est couverte après cinq jours d'un feutrage épais de 2 millimètres de hauteur, qui atteindra 4 à 5 millimètres le douzième jour.

Bouillon gélatiné. — Nombreuses petites touffes blanches qui se rejoignent le quatrième jour et recouvrent toute la surface nutritive d'un feutrage très dense qui atteindra 7 à 8 millimètres de hauteur le dixième jour. Il n'y a pas de liquéfaction au bout d'un mois.

Albumine d'œuf cuite. — Croissance assez lente. Au bout de 10-12 jours belles colonies touffues, hyphes de 4 millimètres de hauteur.

Lait. — Croissance relativement rapide, le lait est peptonifié en 18-20 jours.

Milieu caséine-lactose. — Trainées cireuses après 24 heures. Colonies abondantes le deuxième jour ; le quatrième toute la surface est couverte de touffes blanches qui s'épaissiront dans la suite mais ne dépasseront jamais 3 millimètres. Pas de liquéfaction de la gélatine.

Bouillon. — Evolution assez rapide. Un épais voile blanc se développe en six à sept jours, la hauteur des hyphes est au bout de 20 jours de 3 à 4 millimètres. La partie immergée est blanche.

Raulin normal. — Forme en deux jours un voile assez abondant dont la partie immergée jaunit légèrement le quatrième jour. Après cinq jours le voile recouvre toute la surface du liquide, l'épaisseur du voile immergé s'accroît et sa coloration prend successivement du huitième au vingtième jour les teintes 112, 111, 106, du C. d. C. Le liquide n'est pas coloré.

Raulin glucosé. — Se développe dans les mêmes condi-

tions. Seule la coloration de la partie immergée du voile varie ; du huitième au vingtième jour, elle va de la teinte 171 à la teinte 216 du C. d. C. Le liquide n'est pas coloré.

Raulin lactosé. — Croît lentement. Un petit ilot blanc parvient en dix jours à couvrir la surface du liquide. Sa partie immergée se colore en jaune (216 du C. d. C.). Le liquide n'est pas coloré.

Raulin maltosé. — La croissance est beaucoup plus rapide. Dès le quatrième jour toute la surface du tube est recouverte d'un voile blanc assez épais.

Milieux sucrés. — D'après la vigueur et l'étendue des cultures on peut ranger les sucres les mieux assimilés dans l'ordre suivant : glucose, lactose, saccharose, maltose.

Influence de la température :

Température	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture en 1 jour sur Raulin	POIDS du Mycélium après 3 jours sur Raulin
10°	Filaments courts non cloisonnés.....	110
17°	Filaments courts ramifiés.....	160
22°	Filaments ramifiés, plus longs, appareils reproducteurs	200
27°	Filaments ramifiés, plus longs, appareils reproducteurs	240
32°	Filaments courts, appareils reproducteurs.....	140
37°	Rien	0
42°	Rien	0

La température la plus favorable au développement du *Penicillium caseicolum* est de 25 à 30°.

Action sur les composés azotés :

Albumine d'œuf cuite. — Développement assez lent au début. Aucune liquéfaction après vingt jours.

Lait saturé de craie. — Développement rapide. Le lait est transformé en dix-huit jours en un liquide légèrement jaunâtre, opalescent.

Caséine. — Le cube se délite et donne un liquide trouble.

Action sur les Hydrates de Carbone :

Saccharose. — Il y a intervention et la solution renferme par litre 15 g. 75 (en glucose) de sucre réducteur.

Maltose. — Ce sucre est dédoublé, déviation inférieure de 1°-28 au polarimètre.

Lactose. — Pas de changement.

Glucose. — Il y a production d'alcool.

Empois d'amidon. — Pas de liquéfaction.

Etude de l'Influence de certains sucres sur le Développement de quelques *Penicillium*

Nous avons préparé des liquides de Raulin neutre contenant respectivement 70 gr. p. 1500 de saccharose, glucose, maltose, lactose. Nous avons mis 100 cc. de liquide dans des ballons et nous avonsensemencé deux ballons de chaque nature de chacun des *Penicillium* étudiés : *P. Roqueforti*, *P. caseicolum*, *P. Cabareti*, *P. Pearsoni*. Au bout de 15 jours nous avons titré le sucre de chacun des ballons de la première série. Après 40 jours, nous avons recommencé ce titrage sur la deuxième série de ballons et nous avons d'autre part recueilli les voiles sur des filtres tarés. Ces voiles ont été lavés avec une solution de formol, puis à grande eau, et pesés après trois jours de dessiccation à l'air libre. Ces essais sont résumés dans les deux tableaux suivants :

		LIQUIDE DE RAULIN contenant % 4 gr. 666 de			
		Saccharose	Glucose	Maltose	Lactose
<i>P. Roqueforti</i> . . .	{ Il reste après 15 jours	1.24	1.10	3 »	3.10
	{ — 40 —	0.73	0 »	1.65	1.86
<i>P. caseicolum</i> . . .	{ — 15 —	2.15	1.30	3 »	2.43
	{ — 40 —	1.02	0 »	1.80	0.84
<i>P. Cabareti</i>	{ — 15 —	1.20	1 »	1.25	3.44
	{ — 40 —	0 »	0 »	0 »	1.96
<i>P. Pearsoni</i>	{ — 15 —	1.43	0.70	0.85	3.50
	{ — 40 —	0.92	0 »	0 »	2 »

POIDS DU VOILE FORMÉ en 40 jours dans 100 grammes de liquide de Raulin				
	Saccharosé	Glucosé	Maltosé	Lactosé
<i>P. Roqueforti</i>	1.875	2.250	1.750	1.200
<i>P. caseicolum</i>	1.300	1.625	1.200	1.550
<i>P. Cabareti</i>	1.750	2.375	2.250	1.375
<i>P. Pearsoni</i>	1.500	2.750	1.625	0.875

CONCLUSIONS

Dans la première partie de notre travail, nous avons étudié l'action du chlorure de sodium sur le développement d'un certain nombre de micro-organismes de la flore fromagère et fixé les doses 0/0 de sel marin, susceptibles d'arrêter leur croissance

Le chlorure de sodium exerce une action retardatrice extrêmement marquée. A des doses variant de 5 à 10 0/0, il retarde de 5 à 12 jours le développement normal d'une espèce (1). Des doses supérieures provoquent un retard de 16 à 20 jours.

Les doses maxima supportées par les micro-organismes sont très variables. Alors qu'elles sont de 8 à 10 0/0, pour certains d'entre eux : *Mucor*, *Oidium*, *B. lactis aerogenes*, elles atteignent avec d'autres espèces : « Ferments du Rouge », *Penicillium*, 15, 20, 22 0/0.

Mais l'action au chlorure de sodium, toujours retardatrice à doses élevées, peut, à *petites doses*, être *accélératrice* (2), ou favorable à certaines fonctions de l'orga-

(1) Dans une récente communication à la *Société de Biologie* (8 avril 1911), REMLINGER, étudiant le salage des eaux en vue de leur envoi à un laboratoire d'analyses, a constaté qu'une addition de 8 à 10 0/0 de sel marin assurait pendant 4 à 5 jours la constance du nombre des germes qu'elles renferment. Ces résultats confirment ce que nous disons ci dessus, au sujet de l'action retardatrice du chlorure de sodium.

(2) L'influence accélératrice du chlorure de sodium sur la putréfaction de la chair saine, a été signalée par SPALLANZANI [59] et par CHASSEVANT [10] qui attribuait au Sodium le troisième rang, après le Magnésium et le Potassium, dans la liste des divers métaux classés par ordre de pouvoir accélérateur sur la fermentation lactique.

nisme cultivé sur un milieu salé. Nous avons constaté cette accélération notable sur le *P. Pearsoni* [voir planche p. 89] et d'autre part, nous avons signalé que les « Ferments du Rouge » donnaient des colonies très colorées sur des milieux salés à 2, 3 et 4 0/0.

Dans la seconde partie de notre travail, nous avons étudié deux *Penicillium*, non encore décrits, le *P. Cabareti* et le *P. Pearsoni*, isolés parmi d'autres espèces faisant partie de la flore fromagère.

Nous ne pensons pas que ces *Penicillium* soient particuliers à la flore fromagère et qu'ils jouent un rôle quelconque dans la maturation des fromages. Ils peuvent, à notre avis, être rangés parmi les espèces indifférentes qui vivent sur les fromages, comme elles vivent ailleurs.

Nous donnons ci-dessous la diagnose de ces deux espèces :

P. Cabareti, SP. NOV.

Charact. morphol. — Mycelio repente ramoso primum albido, dein griseo-luteo (222 C. des C.) parce septato, 3-4 μ diametro. Hyphis fructiferis erectis, septatis, 5-8 milim. altis; saepius simplicibus, penicillo confertim ramoso, ramulis ultimis phialidis quaternis aut quinis constipatis, suppositis, phialidis ventricosis 12-14 $\approx$ 2,5-3 μ , conidiis sphaericis, levibus, luteis, 3-4 diam, catenulatis coronatis. Peritheciis ignotis.

Charact. biol. — Substratis variis, optime *Solano tuberoso glycerinato*, hyphorum penetratione tumefacto culto. *Carnis decocto* tenui lutescente, filisque inmersis subjacentibus, velo nante coronato. *Gelatine*, liquefactione secunde die incepto, septimo die rubro-brunneo liquido completo. *Lactis caseina* 22-24 diebus digesto. *Albumine* non liquefacto, sed maculis parvis albis, luteis demum isabellinis sparso. *Glucoso optime* (alcohol orto) nec non

maltoso, saccharoso, minusve lactoso alito. *Amylo* non liquefacto.

Optime culta + 25° + 30°.

Habitat in caseis, Brie dictis, in Gallia.

P. Pearsoni, SP. NOV.

Charact. morphol. — Mycelis repente ramoso, primum albido, demum glauco-griseo (375 C. des C.) parce septato, 3-4 diametro. Hyphis fructiferis erectis, septatis, 3-4 millim. altis, vix ramosis, phialidis verticillatis parum obliquis, ternis aut quaternis constipatis, suppositis; phialidis lageniformibus 6-8 $\approx$ 2-3 μ , conidiis sphaericis, levibus, griseis, 2-3 μ diam., catenulatis coronatis. Peritheciis ignotis.

Charact. biol. — Substratis variis, optime *Solano tuberoso glycerinato*, *Daücoque* optime culta. *Carnis decocto* crasso primumque levi et albido, dein brunnescente sinuatoque velo nante coronato. *Gelatinae* liquefactione quarto die incepto, decimo die rubro brunneo liquido completo. *Lactis caseina* 18-20 diebus digesta. *Albumine* non liquefacto, insulis mammiformibus, albidis dein brunneis maculato. *Glucoso optime* (alcohol orto) nec non maltoso, saccharoso, minusve lactoso alito. *Amylo* non liquefacto.

Optime culta + 25° + 30°.

Habitat ad parietes casearii, La Ferté-sous-Jouarre, in Gallia.

VU BON A IMPRIMER :

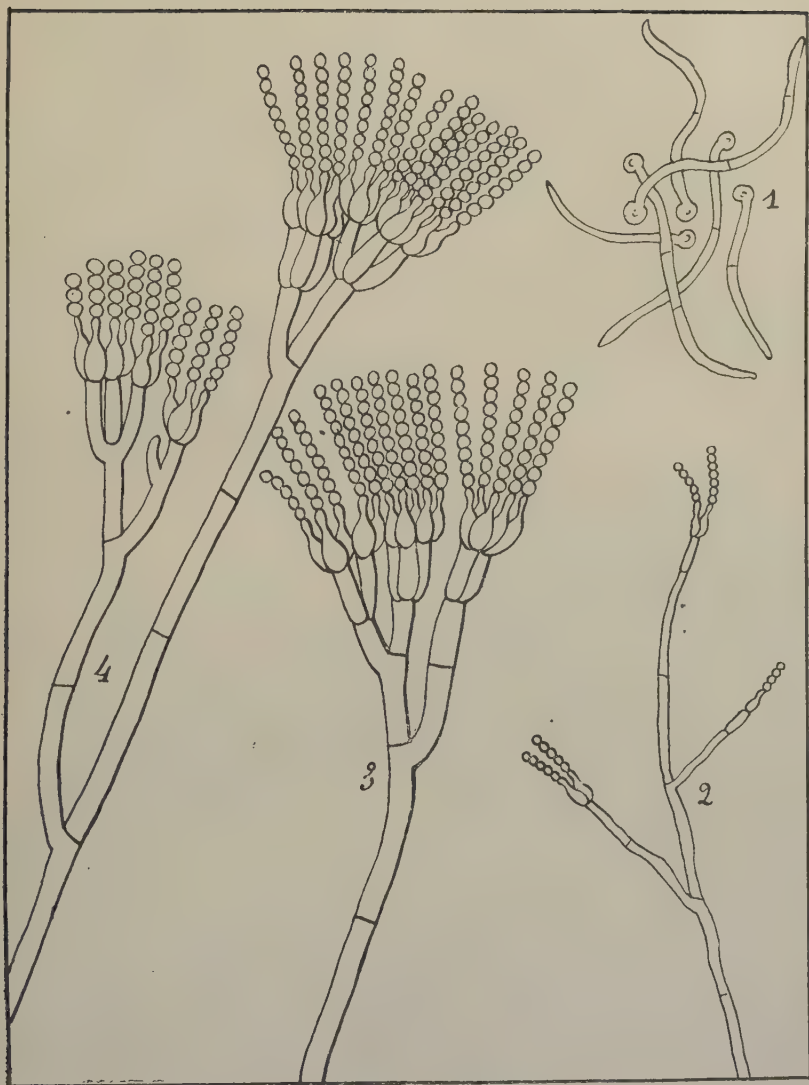
Le Président de la Thèse,
M. RADAIS.

VU :

Le Directeur de l'École,
H. GAUTIER.

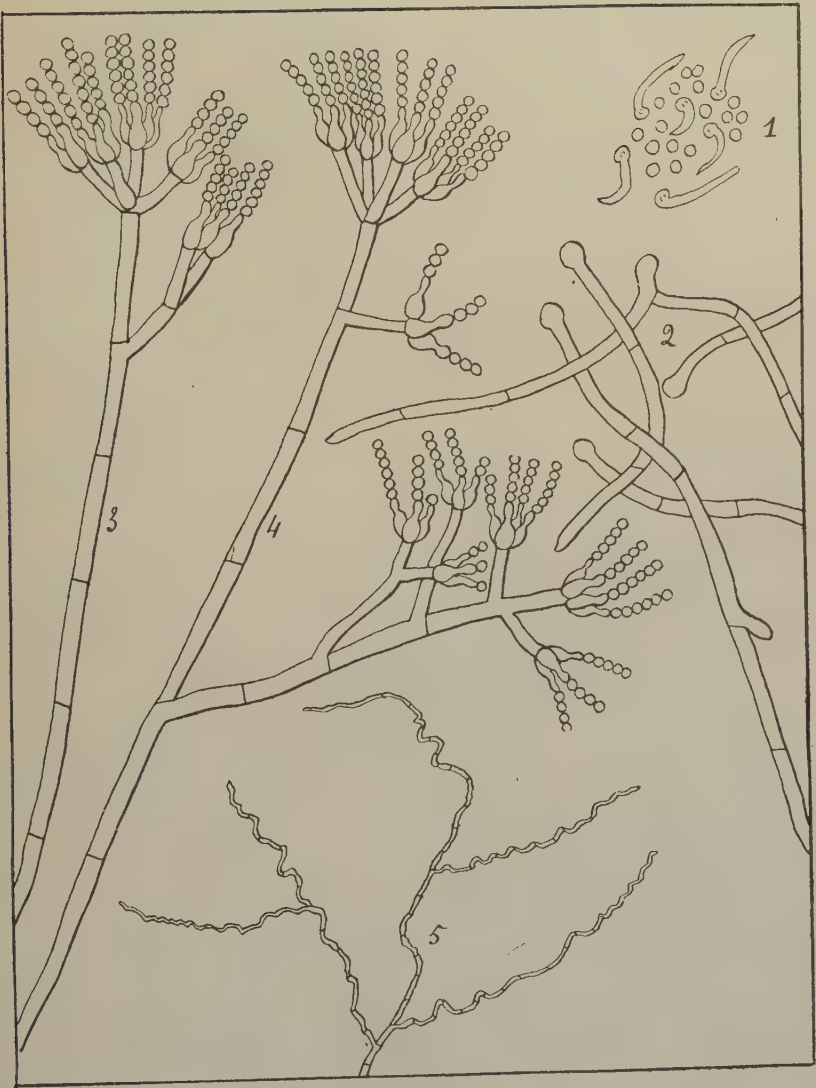
VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.



Penicillium Cabareti

1. — Culture en goutte après 24 heures. — Oc. 1, ob. 1/15 (gross. 635).
 2. — — — — — quatre jours. — ob. 7 (gross. 290).
 3 et 4. — Pinceaux fructifères. — Oc. 1, ob. 1/15 (gross. 635).



Penicillium Pearsoni

1. — Culture en goutte après 24 heures. — Oc. 1, ob. 1/15 (gross. 635).
2. — — — — — 48 — — — — —
3 et 4. — Pinceaux fructifères. — Oc. 1, ob. 1/15 (gross. 635).
5. — Formes stériles (milieu très salé). — Oc. 1, ob. 7 (gross. 290).

RAULIN Gélatiné ayant reçu 0'0, les doses ci-dessous de Chlorure de Sodium

LÉGENDE

Traces	
de végétation .	III
Rien.....	IV

I  III 
II  IV 

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ATHÉNÉE. — *Deipnosophistes*, liv. IV, chap. vi.
2. ADAMETZ. — *Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse*. Bremen, 1893, p. 36.
3. ARTHAUD-BARTHEL. — *Oidium lactis* (C. R. t. CXL, 1905, p. 1475).
4. BABCOCK et RUSSEL. — *Maturation des fromages* (Revue générale du Lait, 1902, p. 280).
5. BAINIER. — *Penicillium caseicolum* (Bull. Soc. Mycologique de France, Mycothèque Ecole de Pharmacie, tome XXIII, p. 94).
6. BERTHELOT. — *Histoire des Sciences. Chimie du Moyen-Age*, tome II, p. 253.
7. BOEKHOUT et OTTO DE VRIËS. — *Ferment lactique et Maturation* (Central-blatt für Bact., 1899, p. 304).
8. BOURQUELOT. — *Les Ferments solubles (diastases-enzymes)*. Société d'Éditions Scientifiques, Paris, 1896, p. 220.
9. BOURQUELOT et GRAZIANI. — *Sur quelques points relatifs à la physiologie du Penicillium Duclauxii* (Bull. Soc. Myc. Fr., VIII, 1892, pp. 147-153).
10. CHASSEVANT (A.). — *Action des Sels métalliques sur la fermentation lactique* (G. Steinhel, Paris, 1893).
11. CHODAL et HOFMAN-BANG. — *Étude de divers ferments lactiques* (Ann. Institut Pasteur, 1901, p. 36).
12. COSTANTIN et REY. — *Sur les champignons des fromages de Brie*, Société de Biologie, pp. 504-507; 1898.
13. CROOKSHANK (E.-M.). — *An introduction to practical bacteriology based upon the methods of Koch* (H.-K. Lewis, London, 1886, p. 249).
14. DAREMBERG et SAGLIO. — *Dictionnaire des antiquités grecques et romaines*.
15. DUCLAUX (E.). — *Principes de Laiterie*, chap. XII et XIII.

16. DUCLAUX (E.). — *Le Lait*, 1894, p. 293.
17. DUCLAUX (E.). — *Traité de Microbiologie*, II (diastases, toxines et venins). (G. Masson, Paris, 1899, p. 768.)
18. ECKLES. — *Maturation des fromages de lait caillé* (Annales agricoles suisses, 1905).
19. FLEURENT. — *Le B. Firmilatus (b. du rouge)*: (Journal Industrie du Lait, 1901, p. 59.)
20. FREEMAN. — *Chaufrage du Lait* (Milchzeitung, 1896).
21. FREUDENREICH (DE). — *Influence des antiseptiques: Chloroforme, Thymol, sur les bactéries des fromages* (Ann. Micrograph., sept. 1897).
22. FREUDENREICH (DE). — *Maturation des fromages* (Journal Industrie Laitière, 1901, pp. 185-193).
23. GORINI (C.). — *La Saumure des fromageries, point de départ bactériologique* (Revue générale du Lait, 1904, IV, pp. 73-76).
24. GRIMBERT (L.). — *Diagnostic des bactéries par leurs fonctions biochimiques* (Thèse Fac. Méd. Paris, 1903, et Arch. de Parasitol., VII, 1903, pp. 237-306).
25. GUÉGUEN (F.). — *Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine dans la technique mycologique* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXI, 1905, pp. 42-46).
26. GUÉGUEN (F.). — *Recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. Etudes biologiques sur le Penicillium glaucum*. (Thèse Doct. Pharm. Paris, 1899 et Bull. Soc. Myc. Fr. XV, 1899, pp. 201-255. XV, 1899, pp. 15-36).
27. GUÉGUEN (F.). — *Emploi du Sudan III comme colorant mycologique, seul ou combiné au bleu coton et à l'iode* (Bull. Soc. Myc. Fr. XXII, 1906, pp. 223-226).
28. GUÉGUEN (F.). — *Les champignons parasites de l'homme et des animaux*, p. 28.
29. GUÉRAULT. — *Séchage des fromages* (C. R. Cong. Int. Laiterie, 1905).
30. IVOLAS (J.). — *Etude sur Roquefort* (p. 6).
31. JENSEN (Orla). — *Zeitschrift für Untersuchung des Nahrungs-und Genußmittel*. (V. 18, 1909, t. 2, p. 680).
32. JENSEN (Orla). — *Maturation des fromages* (Journal Ind. laitière 1901, p. 236).
33. JOHAN-OBSEN. — *Die bei der Käsereifung Wulzamen Pilze* (Centralbl. für Bact. 2 Abt, 1898, p. 16).
34. KLEIN et KIRSTEN. — *Influence de divers sels sur les bactéries des fromages*. Revue Générale du Lait, 1901-1902, p. 19).
35. LABORDE (J.). — *Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'Eurotiopsis Gayoni*. — (Thèse Fac. de Paris, 1896, p. 120)
36. LEBAUT (A.). — *La Table et le repas à travers les siècles* (Luc. Laveur. édit., Paris, 1910).

37. LEZÉ. — *Les Industries du lait* (Firmin-Didot, édit., 1904).
38. LINDET (L.). — *Le Lait* (Gauthier-Villars, 1907, p. 315).
39. LORCHER. — *Influence des sels de chaux, baryte, magnésie, zinc, sur les bactéries* (Pflügers Arch., t. II, 1897, p. 141).
40. LUTZ (L.) et GUÉGUEN (F.). — *De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des Mucédinées et des levures* (Congrès international de Botanique à l'Exposition Universelle de 1900, Paris. Extrait des Comptes rendus, pp. 415-423).
41. MACÉ (E.). — *Traité de Bactériologie* (p. 492).
42. MARCHAL. — *Etude de la flore fromagère* (Ann. Soc. Belge, Microscopie. 1895).
43. MAZÉ. — *Technique fromagère* (Annales Institut Pasteur, 1910, mai-juin-juillet).
44. MESNIL. — (Communication au 1^{er} Congrès International de Laiterie 16-19 oct. 1905).
45. MORINI (F.). — *Sulla forma ascofora del Penicillium candidum Link*, (Malpighia, anno 2, fascicule 5/6, pp. 224-234, Messina, 1888).
46. OTTO FETTICK. — *Quantitative und qualitative Untersuchungen über die Bakterien, Hefen und Pilze der Butter und über den Einfluss des Kochsalzes auf dieselben. Welcher Kochsalzgehalt ist für Dauer-oder Exportbutter Zülässig.* (Abdruck aus den Central Blatt. XXII. Band. 1908).
47. PAGÈS. — *Maturation des fromages* (C. R. t. CXVIII, 1894, p. 1291).
48. POTTEVIN. — (Annales Institut Pasteur, t. VIII, 1894, p. 807).
49. RABELAIS. — *Pantagruel* (Liv. IV et V).
50. RAULIN (J.). — *Études chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une Mucédinée dans un milieu artificiel* (Thèse, Fac. Sc. Paris, 1870).
51. REMLINGER. — *Salage des eaux et analyses bactériologiques*. Soc. Biologie, 8 avril 1911, p. 579.
52. RICH. — *Antiquités grecques et Romaines*. Traduct. Chérueil.
53. ROCHARD (J.). — *Encyclopédie d'Hygiène et de Médecine publique* (t. II, p. 321).
54. SACCARDO. — *Sylloge fungorum*, vol. IV, Aprilis 1886, p. 78.
55. SARTORY (A.). — *Études expérimentales de l'influence de l'agitation sur les champignons inférieurs*. (Thèse Fac. Sc. Paris, 1908, 140 p., 20 pl.).
56. SARTORY (A.). — *Peptonification du lait par certaines moisissures* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 789).
57. SARTORY (A.) et BAINIER (G.). — Soc. Biologie, 4 mai et 20 mai 1911.
58. SELLIER. — *Maturation des fromages* (C. R. t. CXLII, 1905, p. 409).

59. SPALLANZANI. — *Bibliothèque retrospect. Maîtres de la Science*, p. 181 (1893, Masson).
60. STOLL (Otto). — *Beitrage zur morphologischen und biologischen charakteristik von Penicelliomarten* (Inaugural, Dissertation, Plates, p. 56. Würzburg. 1904).
61. THOM (Ch.). — *Fungi in cheese ripening; Camenbert and Roquefort* (Dept of. Agriculture, Washington. Bulletin 82, 1906).
62. THOM (Ch.). — *Cultural studies of species of penicillium* (U. S. Department of Agriculture. February 7, 1910. Washington. Government printing office).
63. VAN SLYKE, HARDING et HART. — *Bacilles et ferments solubles des fromages* (Revue Générale du Lait, 1901-1902, p. 330).
64. WEHMER (Carl.). — *Kleinere mykologische Mitteilungen*. Centralblatt für Bakteriologie, (Abt, 2, Band 3, n° 6, pp. 147-153, Jena, Mar. 20, 1897, p. 149).
65. ZOPF (W.). — *Die Pilze* (pp. 144-150).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction	5
Historique :	
Fabrication des fromages.....	9
Salage des fromages.....	16
Flore superficielle des fromages.....	22
Technique pour l'étude morphologique	27
Technique pour l'étude biologique	33

PREMIÈRE PARTIE

Action du chlorure de sodium sur le développement de quelques microorganismes de la flore fromagère.....	39
<i>Penicillium Roqueforti</i> Thom.....	41
<i>Penicillium caseicolum</i> Bainier.....	44
<i>Penicillium Camemberti</i> Thom.....	46
<i>Penicillium virescens</i> Bainier.....	47
<i>Penicillium Cabareti</i> sp. nov.....	49
<i>Penicillium Pearsoni</i> sp. nov.....	51
<i>Oidium lactis</i> Fres.....	52
« Ferments du Rouge ».....	54
<i>Bacillus acidilactici</i> Hueppe.....	56
<i>Bacillus lactis aerogenes</i> Escherich.....	57
<i>Mucor racemosus</i> Fres.....	58
<i>Sterigmatocystis nigra</i> Van Tieghem.....	60

	Pages
Tableau récapitulatif des doses % de chlorure de sodium suffisantes pour arrêter le développement des microorganismes	61

DEUXIÈME PARTIE

Étude du <i>Penicillium Cabareti</i> sp. nov.	63
Étude du <i>Penicillium Pearsoni</i> sp. nov.	69
Étude du <i>Penicillium caseicolum</i> Bainier	75
Étude de l'influence de certains sucres sur le développement de quelques <i>Penicillium</i>.	80
Conclusions.	83
PL. I. <i>P. Cabareti</i>	87
PL. II. <i>P. Pearsoni</i>	89
PL. III. Influence du chlorure de sodium sur le développement des <i>P. Roqueforti</i> et <i>P. Pearsoni</i>.	91
Index bibliographique.	93
Table des matières.	97

TOURS, IMPRIMERIE PAUL SALMON, 10, RUE GAMBETTA
